

# シリル化フラバン-3-オールを用いた新規プロアントシアニジン合成法の開発 ～位置選択的脱保護条件の発見とその応用研究～

著者	東野 雄祐
学位名	博士(工学)
学位授与機関	大阪電気通信大学
学位授与年度	2017
学位授与番号	34412甲第49号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1148/00000211/">http://id.nii.ac.jp/1148/00000211/</a>



# 博士學位論文

題 目

シリル化フラバン・3-オールを用いた新規プロアントシアニジン合成法の開発  
～位置選択的脱保護条件の発見とその応用研究～

担当指導教員名 齊藤 安貴子 印

申請年月日 2018年 3月 8日

# 博士学位論文

シリル化フラバン-3-オールを用いた  
新規プロアントシアニジン合成法の開発  
~位置選択的脱保護条件の発見とその応用研究~

先端理工学専攻 東野 雄祐

指導教員 齊藤 安貴子

## 内容

第1章 序論 .....	5
第2章 概論 .....	11
第3章 シリル化フラバン-3-オールを用いた procyanidin 誘導体の合成と機能性向上に関する検討 .....	16
3-1. 背景と目的 .....	16
3-2. 実験方法と結果 .....	17
3-3. 考察 .....	21
第4章 シリル化フラバン-3-オールの 5 位選択的脱保護条件の発見と応用研究 .....	23
4-1. 背景と目的 .....	23
4-2. 実験方法と結果 .....	23
4-3. 考察 .....	26
第5章 塩基性条件下におけるシリル化フラバン-3-オールの脱保護条件の発見と応用研究 .....	27
5-1. 背景と目的 .....	27
5-2. 実験方法と結果 .....	28
5-3. 考察 .....	30
第6章 シリル化フラバン-3-オールの 5 位選択的脱保護を応用した 4-6 縮合型 2 量体の選択的合成研究 .....	31
6-1. 背景と目的 .....	31
6-2. 実験と結果 .....	33
6-3. 考察 .....	37
第7章 実験項 .....	39
第8章 総括 .....	48
参考文献 .....	50
謝辞 .....	55
業績 .....	56

## 略語集

本文中、以下の略語を用いた

Ac: acetyl

AcOH: acetic acid

Ac<sub>2</sub>O: acetic anhydride

Bn: benzyl

DIBAL: diisobutylaluminium hydride

DMAP: 4-*N,N*-dimethylaminopyridine

DMF: *N, N*-dimethylformamide

EE: ethoxyethyl

EEOH: 2-ethoxyethanol

HMBC: heteronuclear Multiple Bond Coherence

HPLC: high performance liquid chromatography

iPr: isopropyl

Me: methyl

NMR: nuclear magnetic resonance

PA: proanthocyanidin

TBAF: tetrabutylammonium fluoride

TBDMS: *tert*-butyldimethylsilyl

TBS: *tert*-butyldimethylsilyl

THF: tetrahydrofuran

TMSOTf: trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate

MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, yellow tetrazole

## 第1章 序論

近年、健康への関心が高まるとともに、食品に含まれる機能性物質が注目され、様々な健康食品や特定保健用食品が開発されている。その理由として、政府が提案[1]する「健康寿命延伸」に対する世間の関心が少しずつ高まっていること、高齢化社会が進み、高齢者に対する医療費削減に向けた社会の対策として、健康食品への期待が向上していることが挙げられる。その中でも、ポリフェノールは様々な健康効果を有することが科学的に証明されており、近年では様々な健康食品として流通し[1]、日々摂取されている。一方で、それらの証明は、植物体そのもので行われたり、抽出物で行われたりと、ほとんどが混合物で測定されており、単離された化合物それぞれに注目して研究を行っている例は少ない。

近年、植物中の機能性物質が研究者のみならず一般でも注目を集め、その中でも植物の苦みや渋み、色素の成分で、様々な健康効果を持つことが報告されているポリフェノール化合物[2,3]が特定保健用食品や機能性表示食品として市販され一般に受け入れられている。

特定保健用食品（通称トクホ）とは、健康の維持増進に役立つことが科学的根拠に基づいて認められ、「コレステロールの吸収を抑える」などの表示が許可されている食品であり、表示されている効果や安全性については国が審査を行い、食品ごとに消費者庁長官が許可している[4]。これまで機能性を表示することができる食品は、国が個別に許可した特定保健用食品と国の規格基準に適合した栄養機能性食品に限られていた。そこで、機能性を分かりやすく表示した商品の選択肢を増やし、消費者が目的の機能性を有する商品の正しい情報を理解して選択できるよう、平成27年4月に、機能性表示食品に関する制度が始まった[5,6]。「おなかの調子を整える」「脂肪の吸収をおだやかにする」など、特定の保健の目的が期待できる（健康の維持及び増進に役立つ）機能性を表示することが可能となった。特に、機能性表示食品に関しては、化合物それぞれの分析を行い、その評価をすることによって、その食品（加工品、作物自体を含む）に機能性を表示できるという規制緩和を含んでいる。すなわち、各ポリフェノール化合物に注目し、純粋な化合物を用いて研究を進めることは、食品が本来持っている能力(活性)を評価することに繋がり、健康維持に対して貢献できることに加え、食品の流通においても、商品の付加価値化につながり、貢献できる部分が大きいと考えられる。

しかし実際は、ポリフェノール化合物は多様な骨格を持つことに加え、それぞれの植物によって含まれる構造の骨格が異なること、また、その異性体の存在や、ガロイル基・メチル基などによる修飾、さらには、植物内に存在する酵素によって糖化されるなど、多数

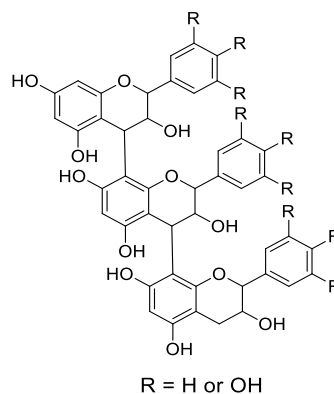


Figure. 1-1. PA の一般構造

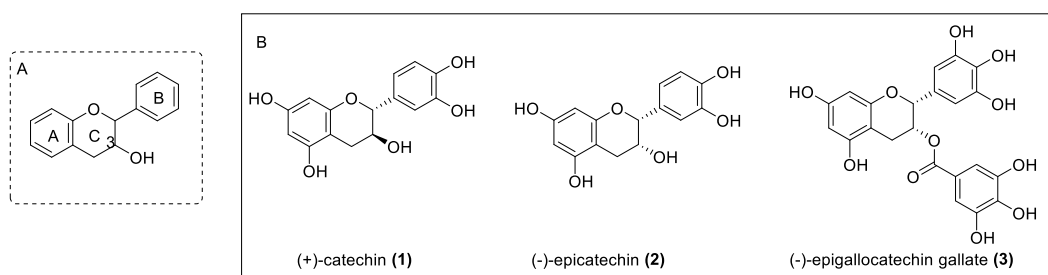
の類縁体の混合物として存在し、また植物種によって含有量が異なる。また、それらの化合物の化学的性質が極めて類似しているため、化合物の極性や吸着力などの性質を利用した方法では、それぞれの化合物を純粋に分離することが困難である。さらに、前述のように、化合物の構造が多岐にわたるため、それぞれの化合物の含有量が少なく、各化合物を機能性評価に十分量（機能性評価の種類によるが、各化合物 10 mg～1 g）確保することがほぼ不可能である。これらの理由から、植物中からポリフェノールの単離・精製が困難であり、詳細な構造-活性相関を得ることができない。

ポリフェノール化合物の中でも、プロアントシアニジン（以後 PA と省略して表記する。PA の一般構造を Fig. 1-1 として示した）と呼ばれる化合物群は、その構造の複雑さから定量的な研究が難しい化合物群として知られている。一方で、PA はブドウやリンゴ、柿、モモ、古代米、大豆などの多くの作物に含まれている渋み・えぐみ成分であり、経験的にも機能性が高い化合物群として知られている[2,3,7]。一般的にも、ワインポリフェノール、カカオポリフェノール等として、高機能性ポリフェノールとして受け入れられ、商品のパッケージなどにも記載されている。

この PA が注目されたのは、20 年ほど前にフランスで発表された「フレンチパラドックス」が最初であった。これは、フランス人が脂質の高い食事をするにも関わらず動脈硬化での死亡率が少ない矛盾が、ワインの摂取、つまりが、PA 摂取量にあるのではないかと言われたものである。現在では、この原因が PA だけではないことが示唆されており、フレンチパラドックスという考え方自体がほぼ消滅したが、そこから始まった PA 研究は、多くの健康機能性を明らかにし、その後も研究人口が多く注目されている分野として定着している。一般的なポリフェノール化合物と比較しても極めて高い抗酸化活性[8]、抗腫瘍活性[9]、抗炎症活性[10]、抗ウイルス活性[11]や、その他にも様々な活性を持つことが確認されている[12,13]。さらに、食経験がきわめて豊富であり、機能性表示食品のターゲットとしても期待されている。

また、PA は別名縮合型タンニンとも呼ばれており、古くから獣皮を革になめす作業に用いられてきた。それ故 PA の化学的性質は「タンパク質、アルカロイド、重金属などと水に雑溶性の複合体を形成する性質を有する水溶性植物ポリフェノール」と定義されている[13]。具体的には、表皮に含まれている細胞間基質であるコラーゲンとの物理的な相互作用によって革が滑らかになることを利用している[14]。それ以外にも PA は様々な生体内タンパク質と相互作用することが確認されており、唾液中タンパク質[15,16]、歯のゼラチン質[17,18]、血中アルブミン [19,20]等、生体内に取り込まれたのちにも何らかのタンパク質と相互作用していることが示唆されている。また、タンパク質だけではなく、細胞膜を構成する脂質二重膜との相互作用も報告されており[21,22]、複雑な生物活性を示す要因となっている。このように、多くの生体分子と相互作用する可能性がある PA の機能性証明・活性発現機構の解明は極めて困難であり、できるだけ系を単純化して研究を行う必要がある。その一つの方法が、有機合成によって純粋な PA を確保して研究を行うことであるが、PA の

複雑な構造によって合成においても様々な困難が存在する。次に、PA の特徴的な構造について述べる。



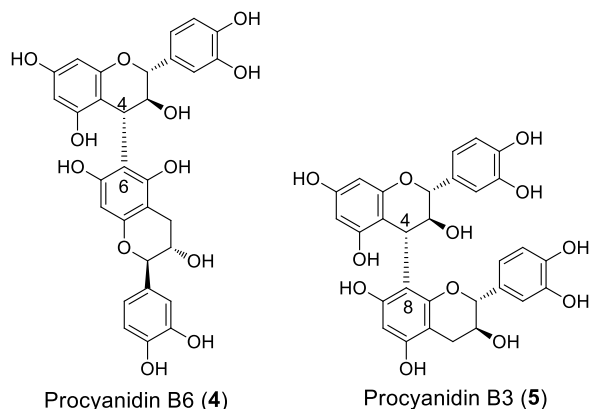
**Figure. 1-2.** フラバン-3-オール的一般構造(A)と代表的な化合物群(B)

PA はフラバン-3-オール誘導体が重合（縮合）した構造をとっている。フラバン-3-オール的一般構造を Fig. 1-2 に示した。フラバン-3-オールは3つの環構造を有し、そのうち、A環とB環はベンゼン環である。またC環はピラン環であり、その3位が水酸基で置換されている。この化合物群は無色から茶褐色を示し、酸処理により赤い色素であるアントシアニンとなる。一般的にポリフェノールというと、赤い色素を指すことが多いが、機能性に関しては、アントシアニンよりもフラバン-3-オールの機能性が高い。それは、アントシアニンはカチオンを持つため水溶性が比較的高いため、脂溶性が高い細胞膜を通過することが難しいことが理由の一つである。また、タンパク質も小分子化合物と相互作用する場合、化合物の脂溶性が重要である。タンパク質は小分子化合物との相互作用において脂溶性ポケットと呼ばれる部分が多く使用されることが多く、それゆえ脂溶性が高い化合物の方が有利である。フラバン-3-オール誘導体の生物活性については、極めて強い抗酸化活性[12]を始め、抗発ガン活性[23]、ガン細胞増殖抑制活性[24]、動脈硬化抑制[25]、抗ウイルス作用[26,27]、抗菌作用[28]などの様々な生物活性が報告されている。

先に PA が構造的に複雑であることについて言及したが、それは PA を構成するフラバン-3-オール化合物に多くの異性体が存在することによる。Fig. 1-2 の A 環、B 環の水酸基の数・位置、C 環の水酸基の立体、さらに、修飾の有無によるフラバン-3-オールの異性体がある。具体的な例を Fig. 1-2 に示しているが、3 位の立体の違いにより、(+)-catechin (1)、(-)-epicatechin (2) が区別され、また、B 環の水酸基の数が増え 3 位が修飾された (-)-epigallocatechin gallate (3) などが存在する。さらに、これらが重合（縮合）するときの組み合わせ、オリゴマーの長さが異なるものも存在し、それらが個別の化合物として区別される。



さらに、縮合位置の違いによる異性体の存在が PA の構造を複雑にしている。Fig. 1-3 に、縮合位置が異なる異性体、4-6 結合型と 4-8 結合型 2 量体を示した。PA のうち、B 環が 2 つの水酸基で置換された化合物群を procyanidin 系化合物と呼び、構造によって個別の化合物名がつけられている。Fig. 1-3 に示した(+)-catechin (**1**)の 2 量体として、4-6 結合型の procyanidin B6 (**4**)、4-8 結合型の procyanidin B3(**5**)が知られており、天然には 4-8 結合型の procyanidin B3 (**5**)が多く、4-6 結合型は微量成分として含まれる。植物内で縮合するときに、8 位と 6 位の反応性を比較すると 8 位の方が高く、それによって 4-8 型オリゴマーが優先して生産されと考えられている。



**Figure. 1-3.** 縮合位置が異なる PA 異性体

ほとんどの PA に関する研究は、天然からの単離を行い、それらを用いて機能性の評価を行っている。それゆえ、微量成分として含まれる化合物群は、評価実験に十分な量の化合物を確保することが困難であり、また、それと比較対照となる化合物の確保も難しいことから、構造-活性相関研究（構造と活性の間の関係性を明らかにする研究）が難しい。つまり、PA は、機能性が高く応用も期待できるにもかかわらず、多様な構造を持つ異性体それぞれについて、純粋な化合物が入手することが難しく、化合物の機能性を証明できない化合物群と言える。それゆえ、それぞれの構造を持つ PA を純粋に確保できるならば、その機能性の証明、構造-活性相関研究が可能となり、研究としてのインパクトも大きい。

著者が所属している研究室では、上記困難性を「精密有機合成化学」によって解決すべく研究を進めている。有機合成化学は、市販の材料から様々な有機反応を用いて目的の化合物を組み立てていく「分子レベルのモノづくり」であり、立体や修飾位置を制御して、目的の化合物のみを純粋に大量に確保できる技術である。特に立体選択性、位置選択性に注目して合成の検討を進めている。以前は PA の立体やオリゴマーの長さが機能性の強弱に大きく影響しない、とされてきたが、当研究室が関わる研究により、微細な立体や、その構造によって大きく機能性が影響されることを報告している[29-45]。しかし、それらの研究も主に天然に存在する化合物をターゲットとし、天然での存在比が多い化合物の合成を行ってきた。

これまで、ポリフェノール化合物は創薬の分野ではあまり注目されていなかった。その理由として医薬品になりやすい化合物の化学特性をまとめた「リピンスキーの Rule of five」という法則があるからである。これは

- ・水素結合ドナー(OH, NH)が 5 個以下であること
- ・水素結合アクセプター(N, O)が 10 個以下であること
- ・ブタノール-水 分配係数 (logP) が 5 以下であること
- ・分子量が 500 以下であること。

という法則に当てはまる化合物は優れた薬剤になりやすいという経験則から提唱された法則である。実際の創薬の分野では新たな化合物を探索、合成する際にこのルールに沿って行うためポリフェノール化合物は対象外となる。特にフラバン-3-オール誘導体は比較的分子量が大きく二量体になるだけでも分子量 500 は超えてしまう。また複数の水酸基を持つことからこのルールからはずれてしまう。一方で、フラバン-3-オール誘導体は植物中に含まれる成分であり食経験が豊富であること、また食品由来であることから副作用が少ないことが期待できること、そして下記にあるように一部修飾を行うことで活性が向上するという性質を持つ。そこでこれまで注目されていなかったこの化合物群を基にした創薬への応用をしたいと考えた。

これらの背景を受け本博士論文では、第一の目的として、非天然型の高機能性 PA の合成研究を行い、さらに機能性を発揮させうる化合物群の開発を行いたいと考え研究に着手した。どのように機能性を高めるか、文献を検索したところ、EGCG (**3**)が持つようなガロイル基を含む化合物、あるいは、アセチル基や脂肪鎖によって脂溶性を高めることで、フラバン-3-オールや PA の機能性を向上させた例が複数報告されていることがわかった。多くの報告が存在するが、最近のものでは、EGCG (**3**)のアセチル化合物が過酸化水素の細胞毒性を下げるという報告[46]や、procyanidin B3 (**5**)の水酸基の一カ所をイソプロピルエーテルで修飾すると抗酸化活性が約 2 倍向上するという報告[48]がある。

また、第二の目的として、天然存在比が低い化合物の合成法の開発を行い、天然に微量にしか存在しない化合物群の機能性解明に寄与したいと考えた。これまでのPA合成は、4-8 結合型オリゴマーに特化して研究が進められてきたため、Fig. 1-3に示したような4-6型オリゴマーに関しての研究は進んでいない。その理由として、4-6型結合を形成させる方法論の開発が進んでおらず、合成研究を行うことが出来なかったことがあげられる。すなわち本博士論文では、より機能性が高い非天然型PAの開発研究、および、植物中に含まれるPAの中でも、天然での存在比率が低い構造である4-6型オリゴマー構造を持つ化合物procyanidin B6 (**4**)を純粋に得る方法論・技術の開発を同時に進めた。

まず、非天然型PAの開発研究を進めるため、使用する保護基の検討を行った。概論で詳細を述べるが、有機合成を行う際、反応させる場所以外を不活性化して反応に関与しないようにするため保護基を使用する。様々な保護基が開発されており、その反応や合成するときに使用する試薬によって、合成計画の際に選択する。これまでに当研究室で行ってい

るPA合成では、オリゴマー中のすべてのフェノール性水酸基をベンジル基(Bn基)で保護していた。これは、加水素分解という穏やかな反応条件で除去することができるため使用しているが、オリゴマー中すべてのBn基が同時に脱保護されることから、様々な非天然化合物を合成するには不向きである。そこで、オリゴマー合成で用いる保護基の再検討を行い、ベンジル基で保護したユニットと、シリル系の保護基であるTBDMS基(*t*-butyldimethylsilyl基)で保護したユニットを縮合することで、オリゴマーの各ユニットで別の官能基で修飾可能な手法の開発に成功した。この方法を用いて合成した非天然型PAを用いて、子宮頸ガン細胞HeLa S3細胞に対する細胞増殖抑制活性を測定したところ、天然型よりもはるかに活性が向上した非天然型のPA合成に成功した[48][49]。また、TBDMS基を用いて合成研究を行った実験において、複数の環境が類似したTBDMS基の中で位置選択的に脱保護可能な条件を見出した。この脱保護法を応用することで、上記4-6型オリゴマー構造を持つ化合物procyanidin B6 (4)を選択的に合成できる方法論を開発することができた[50]。

4-6型オリゴマーprocyanidin B6 (4)の合成研究は、開始当初は世界中でどこも達成していなかったが、本博士論文における合成法開発達成とほぼ同時期に、世界初の選択的合成法が東京工業大学鈴木先生らによって報告された[51]。本方法が世界初の合成法とならなかったが、方法論的には異なることから論文化できた。本論では、その方法論の差についても詳細に論じる。

## 第2章 概論

### 2-1. フラバン-3-オール誘導体の構造と記載方法

フラバン-3-オール誘導体とは、Fig. 1-2、および、Fig. 2-1 に示したように、フラバン骨格の3位が水酸基で修飾された構造を特徴としたポリフェノール化合物の一群である。この化合物群は、便宜上それぞれの環をA環、B環、C環（オリゴマーの場合は、さらに、D、E、Fと続く）と規定する。また、構造式のナンバリングは、Fig. 2-1 の(+)-catechin (**1**)の構造中に示した。以後、化合物の修飾位置などは、その番号で示す。構造的には、それらのベンゼン環上に複数の水酸基を持ち、その数や位置によって性質が異なる。この構造を持つ化合物は様々な植物に含まれ、紫外線吸収能、また、極めて強い抗酸化活性を持つことから、植物が紫外線から身を守り、紫外線や呼吸によって生産される活性酸素から身を守るために二次代謝産物として合成していると考えられている。動物は、植物が生産するこれらの化合物を食物として摂取し、化合物の機能性を利用していると考えられる。

C環の2位、及び3位の炭素が光学異性炭素であり、天然には、両方の光学異性体が存在する。また、2位、3位の立体について、2位3位が異なる方向を向いている物を2,3-*trans*体、同じ方向を向いている物を2,3-*cis*体と表現する。修飾位置は、今後数字で表すが、Fig. 2-1 に示すものを基本とする。

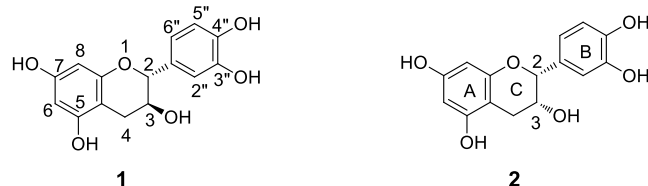


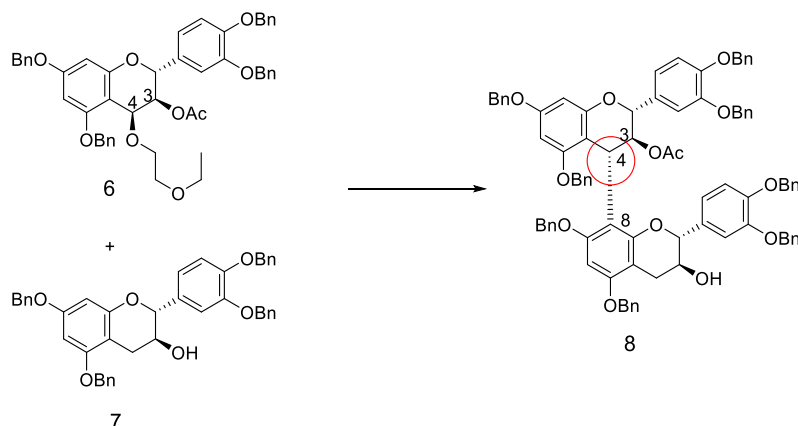
Figure 2-1. Structures of (+)-catechin (**1**) and (-)-epicatechin (**2**)

### 2-2. 過去のフラバン-3-オール縮合体の合成研究

オリゴマーの一般的な合成法は、(+)-catechin (**1**)や(-)-epicatechin (**2**)から保護基などを導入して誘導したフラバン-3-オール誘導体の4位に発生させたカチオンに、もう一分子のフラバン-3-オール誘導体を縮合させてオリゴマー構造を構築していく手法を用いている。この4位は、ベンジル位に相当し、カチオンが安定しやすい構造である。一方で、2位もベンジル位に相当するが、2位に結合しているB環や3位の水酸基が嵩高いため、カチオンが生成しにくいと考えられる。

実際の合成法をScheme 1 に示した。カチオンを発生しやすくするため、4位に脱離基を導入した求電子体 **6** を合成し、この化合物に酸触媒（ルイス酸など）を作用させ速やかにカチオンを発生させることができる。このように、2分子のフラバン-3-オール誘導体を反応させる方法を、ここでは「分子間縮合反応」による合成法と呼ぶ。新たに生成した4-8間

の結合は、3 位の水酸基に対して *trans* 配置をとるような生成物が優先して得られる。



**Scheme 1.** 分子間縮合反応による 2 量体合成法

このとき、求電子体 **6** の 4 位に、どのようにカチオンを発生させるか、求核 **7** の 6 位と 8 位のどちらを反応させるか (試薬選択)、求電子体 **6** の 4 位に、 $\alpha$ 、 $\beta$  のどちらかの側から選択的に反応させるか (立体選択性)、生成したオリゴマー **8** が縮合する度合い (重合度の) をどのように制御するか、さらに、フェノール性水酸基の保護基に何を用いるか、などの検討をそれぞれ行う必要があり、これらがオリゴマー合成法開発のポイントとなる。

これまでの合成研究において様々な検討がなされ、この縮合反応については以下のことがわかっている[29-45]。

- 1) 求電子体の 4 位の脱離基としてエトキシエタノール (EEOH) が、酸化反応で導入した求電子体の合成収率や安定性、その後の縮合において最も優れている。メチル (Me) 基、イソプロピル (iPr) 基、ベンジル (Bn) 基、アセチル (Ac) 基などでは、酸化反応の収率、縮合における反応性、求電子体の安定性において、エトキシエチル (EE) 基に劣ることが確認されている。また、水酸基の場合は、化合物自体が不安定となり、分解しやすいことも確認されている。
- 2) 求核体の 5 位と 8 位を Bn 基や *t*-ブチルジメチルシリル (TBDMS) 基で保護した場合、8 位の反応性が 6 位に比べ圧倒的に高く、8 位が選択的に反応する。保護基がない場合では 6 位と 8 位の両方に反応するが、この場合も 8 位が優先する。森の条件検討[52]により、求核体のフェノール性水酸基の 5 位を電子吸引性の保護基で保護した場合、8 位の反応性が下がり縮合反応が進行しないことが明らかになっている。

フラバン-3-オール(+)-catechin (**1**)は、2,3-*trans* 構造を持ち、この誘導体を求電子体と

した場合は、温度などの反応条件によって選択性が変化しやすい。3 位に導入した官能基の大きさ・種類によりその立体選択性は変化する。求核体 3 位をエステル化することによる隣接基関与を利用し、かさ高い求核体を反応させた場合では、より 3,4-*trans* 体が優先して生成しやすい。また Bn 基で保護した求核体を用いた場合微量に 3,4-*cis* 体が生成されるが Bn 基よりも嵩高い TBDMS 基を用いると 3,4-*trans* 体の選択性が向上する。2,3-*cis* 型のフラバン-3-オールである(-)-epicatechin (**2**)を求電子体とした場合には、3,4-*trans* 体が選択的に生成する。これは、2 位と 3 位の置換基が同じ方向にあるため、求電子体の攻撃が官能基と反対側から優先して起こるためである。Bn で保護した(+)-catechin (**1**)を用いて 2 量体合成を行った初めての例において、縮合位置の選択性は 3,4-*trans* : 3,4-*cis* は 2:1 程度であった[53]。また、(-)-epicatechin (**2**)のオリゴマー合成では異性体についての記述はないことから[54]、他研究グループにおいても立体選択的に縮合が進行しており異性体の生成は確認されていないと考えられる。

- 3) 当研究室では、自己縮合による長鎖のオリゴマー生成防ぐために、過剰量の求核体を用いて縮合反応を行っている。求電子体の 8 位にハロゲン置換基を導入し、過剰な重合が起きないように工夫して合成している例も報告されている[51]。また、反応に用いるルイス酸の種類により自己縮合を防ぐ手法も報告されている[55]。
- 4) フェノール性水酸基の保護基についても多くの報告がある。Ac 基や Me 基は、構造決定の際の誘導体として用いられることが多く、安価に合成を行うことができる保護基であるが、これらは穏やかな条件で脱保護を行うことが難しく、PA のような反応性が高い化合物では、脱保護の条件で分解する可能性があるため、このような合成で用いられることは少ない。これにかわって水素による接触還元による脱保護が可能な Bn 基が主に用いられている。一方で、Bn 化による副生成物として、C-Bn 化合物の存在が精製を困難としていることも確認されており、保護基については検討の余地がある。

これらを踏まえたうえで、本研究では、様々な立体を持つ PA を合成可能な手法の開発や反応条件の検討を進めた。

### 2-3. ガロイル基を含むフラバン-3-オールの単離と生物活性

ガロイル基を含むフラバン-3-オール化合物として、(-)-epigallocatechin-3-*O*-gallate (EGCG)

- (**3**) が広く知られている。(-)-EGCG (**3**) は一般にはお茶カテキンとも呼ばれ、Fig. 2-2 に示したように、フラバン-3-オールの A 環上に水酸基を 2 つ、B 環上に 3 つ有し、3 位がガロイル基で修飾された構造を持つ。(-)-EGCG (**3**)は中程度だが、抗酸化活性やガン細胞増殖抑制活性を持つが、一方で、ガロ

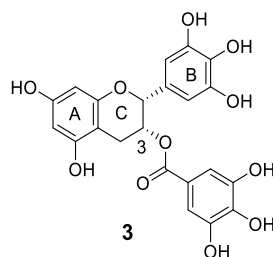


Figure 2-2. ガロイル基を持つ(-)-EGCG (**3**)

イル基を持たない(+)-catechin (**1**)や(-)-epicatechin (**2**) はガン細胞増殖抑制活性を示さない。このことから、ガロイル基が様々な生物活性、機能性に関与していると考えられる。

## 2-4. ガロイル基導入による機能性向上のエビデンス

以前、齊藤は図 2-3 に示した procyanidin B1 (**10**)、B2 (**12**) 及び、それらにガロイル基を導入した **11**、**13** を合成した[38,39]。これらの化合物を用いて子宮頸ガン細胞 HeLa S3 細胞への細胞増殖抑制活性を測定した結果、ガロイル基を導入していない **10**、**12** では、増殖抑制活性が見られなかったが、ガロイル基を導入した **11**、**13** では、強い増殖抑制活性が見られた (未発表データ)。これらのデータからもガロイル基の導入は、PA の機能性向上を目的にした場合、極めて有効であることがわかる。

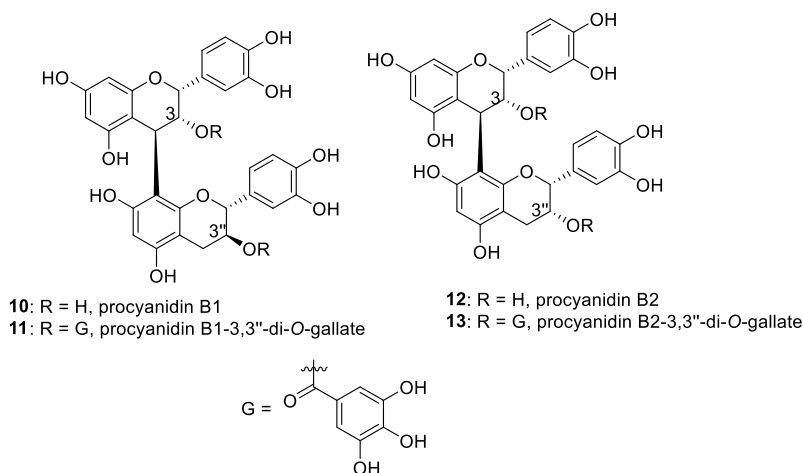


Figure 2-3. ガロイル基を導入した 2 量体の構造

## 2-5. 有機合成における保護基の重要性

有機合成では、反応させたい場所のみを選択的に変換するため、様々な保護基を用いる。これは、特定の化学反応から官能基を保護することを目的としている。様々な保護基が開発されており、様々な反応条件に適した保護基が知られている。保護基の選択が有機合成の成功を左右するほど重要である。任意のタイミングで保護、脱保護ができるか、反応中に不本意な脱保護がされないかなどを考慮し、また選択した保護基によって収率、選択性に変化することからどの保護基を選択することが有機合成では重要である。本博士論文において用いた TBDMS 基はフッ素イオンで脱保護されるが、Bn 基はフッ素イオンには影響されないが、水素雰囲気下での加水素分解で除去できる。このように、脱保護条件が異なることからそれぞれ別に修飾することが可能となる。

本研究では、これまでオリゴマー合成で用いてきた Bn 基のほかに新たにシリル系保護基である TBDMS 基を用いた。この TBDMS 基でフラバン-3-オール類を保護する手法は富山県立大 中島らによって開発され特許を取得している手法である。これはフラバン-3-オール

類のフェノール性水酸基を、DMF と THF の混合溶媒を用いることで選択的に TBDMS 化することが可能な手法である。上記のとおりこれまで用いてきた Bn 基と TBDMS 基の脱保護条件が異なること、また Bn 基に比べて嵩だかく、オリゴマー合成時の立体選択性が向上するのではないかと考え TBDMS 基を用いることにした。

また、本研究において見いだされたフラバン-3-オール の 5 位 TBDMS 基の位置選択的脱保護は、類似の条件下にある 4 つの TBDMS のうち、一カ所のみ修飾することができる新規手法として極めて重要である。有機合成において、ある一カ所を選択的に変換できる手法は極めて重要であり、その反応を足がかりとして現在様々な合成研究が進行中である。



### 第3章 シリル化フラバン-3-オールを用いた procyanidin 誘導体の合成と機能性向上に関する検討

#### 3-1. 背景と目的

序論、概論で述べたように、これまでに様々な PA をそれぞれ純粋に合成する方法を開発してきた。それにより通常は同時に入手不可能な様々な類縁体を精密有機合成により純粋な化合物として確保し、その機能性を生物活性試験の測定により評価してきた。一方で、天然型 PA よりも機能性が高い非天然型 PA 誘導体の合成により、さらに機能性が高い化合物の開発にも着手した。概論で述べたように、ほとんどの PA 合成は化学的に安定な Bn 基をフェノール性水酸基の保護基として用いている。本章では、シリル系保護基である TBDMS 基を用いて合成検討を行ったことで、生物活性向上に成功した研究について述べる。

合成のターゲット化合物として、(+)-catechin (**1**)と(-)-epicatechin (**2**)から構成される 2 量体、procyanidin B1 (**10**)、procyanidin B3 (**5**)を選択し合成検討を行った。具体的には、2 量体を構成する 2 つのフラバン-3-オール、それぞれを異なる保護基で保護して縮合する。保護基がそれぞれのユニットで異なる場合の大きな利点は、区別して脱保護することができることであり、2 量体の上下ユニットそれぞれに別の官能基を導入することが可能となる。さらにこの検討は、PA に関するこれまでの研究において解明出来なかった、オリゴマーのどの部分が活性に重要なのかを明らかにできる可能性もある。

Bn 基を上ユニットの保護基、TBDMS 基を下ユニットの保護基として用いて合成研究を行った。また、保護基が異なることを利用して、下ユニット、上ユニット、それぞれをアセチル (Ac)化して子宮頸ガン細胞 HeLa S3 に対して細胞増殖抑制活性試験を行ったところ、procyanidin B1 (**10**)の誘導体では、下ユニットをアセチル化したとき、大きな活性上昇が見られた。上ユニットをアセチル化したときは、大きな活性上昇が見られなかったことから、機能性発揮には、上ユニットの水酸基が必要であることが示唆された。一方で、procyanidin B3 (**5**)の誘導体では、アセチル化しても活性の大きな変化は見られなかった。procyanidin B1 (**10**)と procyanidin B3 (**5**)の違いは、上ユニットの 3 位の水酸基の立体のみであることから、PA の機能性は、その微細な構造に大きく影響されることを証明することができた。

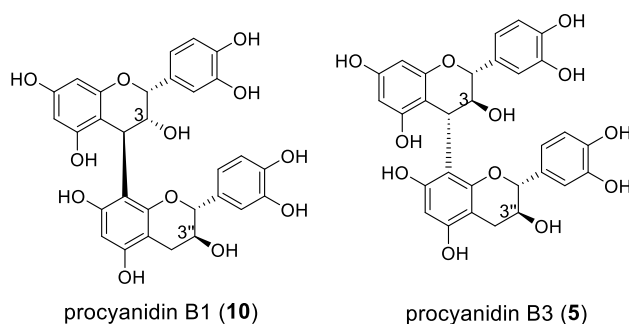


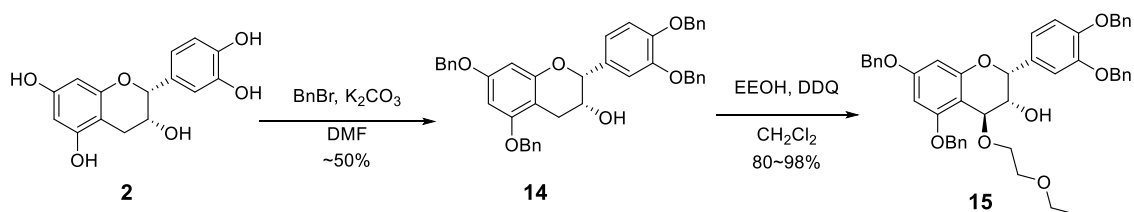
Figure 3-1. Procyanidin B1 と B3 の構造

Procyanidin B3(**5**)の誘導体では、アセチル化しても活性の大きな変化は見られなかった。Procyanidin B1(**10**)に関する成果は、既に学術論文として報告している[56]。

### 3-2. 実験方法と結果

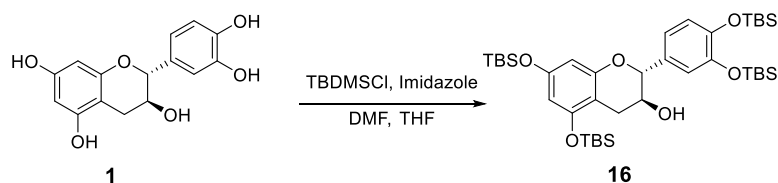
#### 3-2-1. Procyanidin B1 誘導体の合成研究

まず procyanidin B1 誘導体の上部ユニットに相当する求電子体 **15** の合成を行った (Scheme 3-1)。市販の(-)-epicatechin (**2**)を原料として用い、DMF 溶媒中  $K_2CO_3$  を塩基として BnBr により、フェノール性水酸基を Bn 基で保護した化合物 **14** を収率 50%程度で得た。次に **14** に対し dry  $CH_2Cl_2$  中 EEOH を加えその後 DDQ を少しずつ反応液に添加し、酸化的に 4 位にエトキシエチル基を導入した化合物 **15** を収率 80~98%で得た。



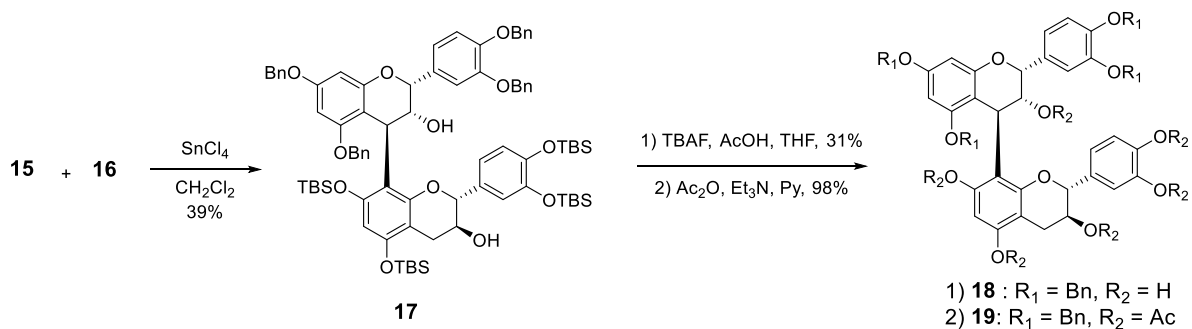
Scheme 3-1. 求電子体 **15** の合成 (上ユニット)

次に、(+)-catechin (**1**)から求核体の合成を行った。**1** を原料とし DMF-THF 混合溶媒中 TBDMSCl、Imidazole を用いてフェノール性水酸基を TBS で保護した化合物 **16** を得た (Scheme 3-2)



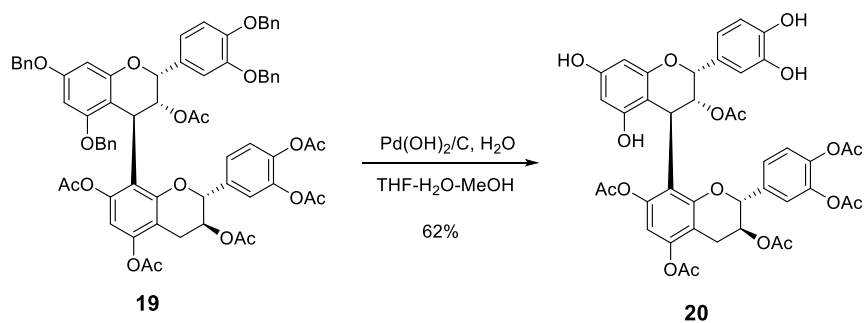
Scheme 3-2. 求核体 **16** の合成 (下ユニット)

上記 Scheme 3-1、3-2 で合成した各単量体ユニットを用いて、縮合反応を行った。求電子体 **15** と求核体 **16** を dry  $CH_2Cl_2$  に溶解し、ルイス酸として四塩化スズを用いて縮合し、**17** を 39%の収率で得た。その後、下部のユニットの TBDMS 基を THF 溶媒中、酢酸酸性条件下で TBAF により脱保護し化合物 **18** を 31%で得た。生成したフェノール性水酸基をアセチル化し 98%の収率で **19** を得た (Scheme 3-3)。



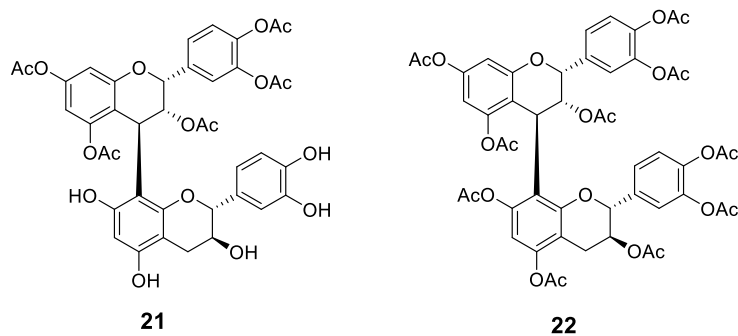
**Scheme 3-3.** 2 量体合成と下ユニットのアセチル化

化合物 **19** の上部ユニットの Bn 基を THF-H<sub>2</sub>O-MeOH 混合溶媒中、水素雰囲気下、Pd(OH)<sub>2</sub>/C を触媒とした加水素分解反応により脱保護し化合物 **20** を得た(Scheme 3-4)。この化合物を便宜上、EC-AcC と呼ぶ。(EC: epicatechin unit、C: catechin unit、Ac: acetylation の意)



**Scheme 3-4.** 下ユニットがアセチル化された procyanidin B1 アナログ (**20**)の合成

この化合物の他に、他者が合成し提供して頂いた AcEC-C (**21**)、および、perAcB1 (**22**)を加え、HeLa S3 細胞に対する増殖抑制活性試験を行った結果を Fig. 3-3 に示した。



**Figure 3-2.** AcEC-C (**21**)と perAcB1 (**22**)の構造

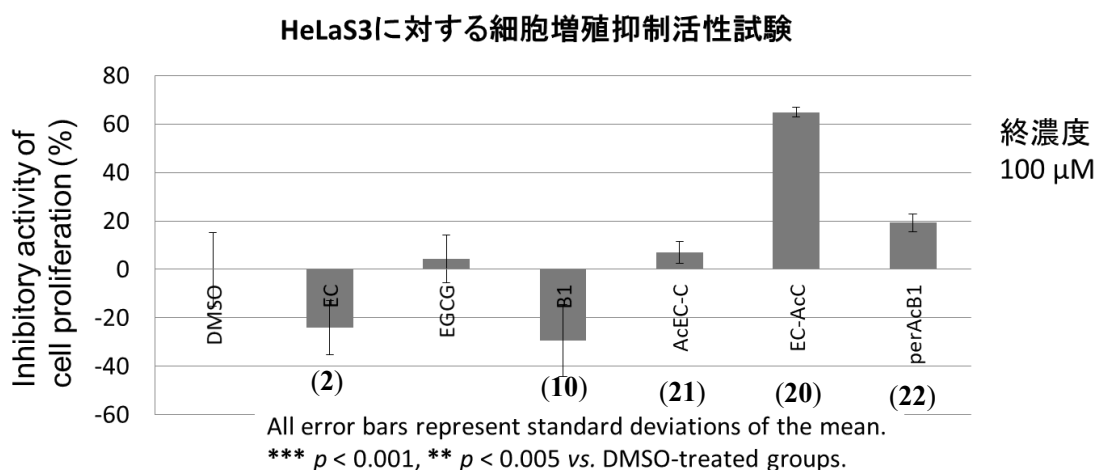
合成した procyanidin B1 類縁体、および、単量体を用いて子宮頸ガン細胞 HeLa S3 細胞を用いた細胞増殖抑制活性試験を行った。今回は MTT 法を用いて測定を行った。MTT 法とは生細胞の数量を測定する比色定量法である。この手法を用いることで培養細胞の生存率や増殖率を測定することが可能となる。MTT は黄色の化合物で、呼吸に関係する酵素により開裂が起こり、暗青色のフォルマザンへ変化する。この酵素は生細胞にのみ酸化開裂がおこるため死細胞では開裂出来ない。この色の変化を吸光度測定により数値化することで、細胞増殖を評価することができる。具体的な手順として、プレートに細胞を植えその後、終濃度 100  $\mu$ M になるよう化合物を入れ暴露後 24 時間の生細胞数を測定し、そこから細胞増殖抑制活性率を算出した。

細胞数の増減の割合は測定した値を用いて以下の式から各化合物の細胞増殖抑制率を算出した。

$$(1 - (\text{化合物の平均値} / \text{コントロールの平均値})) \times 100$$

この値が大きいほどグラフが大きくなり、細胞の増殖抑制活性が強いことを示している。

グラフの縦軸は細胞増殖率を示しており、化合物を溶解している溶媒である DMSO をコントロールとして、DMSO のみを加えた結果を基準として規格化している(DMSO もわずかながら細胞毒性を示すが、この溶媒以外に様々な化合物を溶解可能なものがない。その溶解度の高さ、及び、揮発性の低さから一般的に生物系の実験で用いられる溶媒であり、細胞培養においては 1%までは混合可能だとされている)。



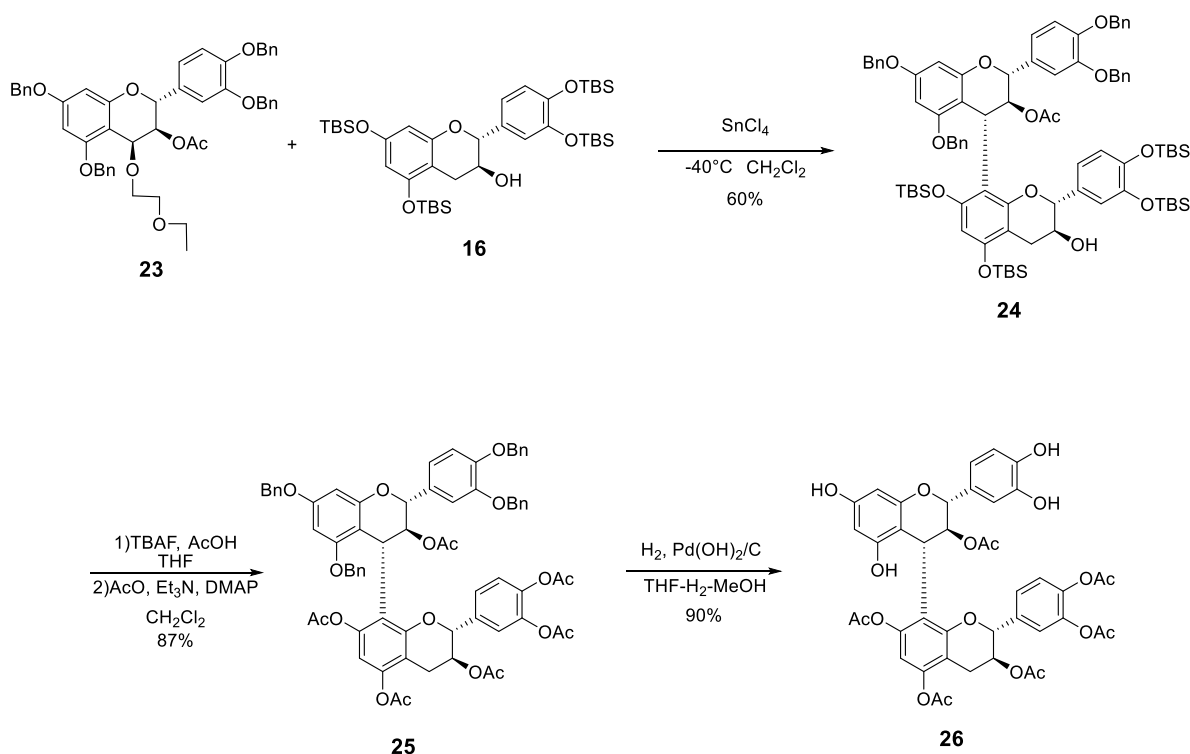
**Figure 3-3. HeLa S3 細胞に対する細胞増殖抑制活性**

グラフの値が 0 であることは、DMSO のみ加えた場合と同等の細胞増殖していることを示し、グラフの数値が高くなれば、その細胞増殖が阻害されていることを示す。故に、グラフが高い数値を示した場合、ガン細胞の増殖をより抑制していることを示している。

Figure 3-3 から、抗ガン活性等の活性が広く研究されている EGCG (5)を基準として考える

と、EGCG (5)よりもガン細胞増殖抑制率が高いのは、下のユニットを Ac 基で保護した procyanidin B1 アナログ EC-AcC (20)と上部のユニット及び上下ともに Ac 基で保護された perAcB1 (22)であった。特に、EC-AcC (20)の活性は高く、ほとんどの細胞が死滅していることが確認された。一方で、上部ユニットがアセチル化された procyanidin B1 アナログ AcEC-C (21)では活性は低かった。単量体である(-)-epicatechin (2)、および、procyanidin B1 (10)では、むしろ細胞が増殖している（グラフの値がマイナスになっている）ことが確認された。このように、2 量体のユニットごとに制御して修飾し、活性が向上した例は、本研究が初めての例であり、これらの結果をまとめて論文として受理された。 [56]。

ここで、負の値がえられた(-)-epicatechin (2)、および、procyanidin B1 (10)についてであるが、2014 年にプロアントシアニジンの細胞増殖効果が報告されていることから、本結果においても、これらの化合物は細胞に対して毒性がなく、むしろ、細胞増殖を促進した可能性が示唆されている[57]。化合物の一部をアセチル化したことで機能性が逆転することも、極めて興味深いと考えている。

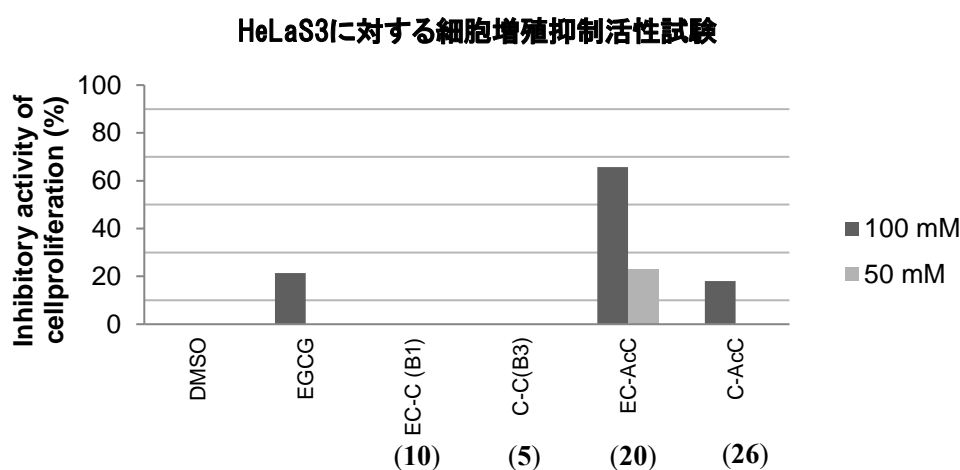


**Scheme 3-5.** 下ユニットがアセチル化された procyanidin B3 アナログ (26)の合成

Procyanidin B1 アナログ EC-AcC (20)で活性の向上が見られたことから他の B タイプ 2 量体でも同様に活性が向上するか確認したいと考えた。化合物 (20)と上部ユニットの立体のみ異なる(+)-catechin (1)の 2 量体である procyanidin B3 (5)アナログとの比較を行うことによ

り、細胞増殖抑制活性の向上に対する微細な構造の影響があるか確認できると考えた。Scheme 3-5 に示したように、procyanidin B3 (5)の下部ユニットアセチル化体 (C-AcC)(26)の合成をおこなった。

求電子体 23 と求核体 15 を dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> に溶解し、ルイス酸として四塩化スズを用いて縮合し、24 を 60% の収率で得た。その後、下部のユニットの TBDMS 基を THF 溶媒中、酢酸酸性条件下で TBAF により脱保護し、その後生成したフェノール性水酸基をアセチル化しワンポットで 87% の収率で 25 を得た。化合物 25 の上部ユニットの Bn 基を THF-H<sub>2</sub>O-MeOH 混合溶媒中、水素雰囲気下、Pd(OH)<sub>2</sub>/C を触媒とした加水素分解反応により脱保護し化合物 26 を得た。



**Figure 3-4.** HeLa S3 細胞に対する細胞増殖抑制活性

Figure 3-4 に、HeLa S3 細胞に対する増殖抑制活性試験について C-AcC (26)の活性を示した。Figure 3-4 と異なる時期に測定しているため、グラフの数値は一部異なるが、だいたいの傾向は一致している。Procyanidin B1 アナログ EC-AcC (20)と procyanidin B3 アナログ C-AcC (26)を比較すると、明らかに C-AcC (26)の活性が低いことが明らかになった。これは、アセチル化による HeLa S3 細胞増殖抑制活性向上は、化合物の微細な構造が関与することを示唆している。

### 3-3. 考察

合成したprocyanidin B1のアセチル化アナログ、および、procanidin B3のアセチル化アナログを用いて、HeLa S3細胞に対する増殖抑制活性試験を行った。その結果、アセチル化することによって、procyanidin B1アナログEC-AcC (20)では、細胞増殖阻害率が大きく向上する

ことが明らかになった。一方で、procyanidin B3アナログC-AcC (26)では、わずかに活性向上はみられたが、EC-AcC (20)が示したような大きな活性向上は見られなかった。この活性向上は、アセチル化によって脂溶性が高くなったことにより、細胞膜への親和性が高くなったことによると考えられる。序論で述べたように、ヒトの細胞は脂質2重膜で覆われているため脂溶性が高い化合物の親和性が高い。細胞に何らかの影響を与えるためには、①細胞膜上の受容体に結合して細胞内のシグナル伝達に影響を及ぼす、②細胞膜を通過して細胞内に入り込み、細胞内物質に影響を与える、③細胞膜に物理的な影響を及ぼし、細胞を物理的に破壊する、の3つが考えられる。③に関しては、細胞の形状がほぼ変わらないことから考えにくい。①であれば、脂溶性に関係なく活性が発揮されるはずであることから、この場合は考えにくい。残るは②であるが、脂溶性が高くなり細胞膜を通過できるようになったと考えることができる。しかし、ここで、procyanidin B1の水酸基をすべてアセチル化した化合物 (22)の脂溶性が最も高いはずであるのに活性が低いことに注目すると、脂溶性だけが活性発揮に必要な要因ではないことが示唆されるが、脂溶性が高すぎると、細胞を培養している培地に拡散しにくくなり、細胞に到達するまでに沈殿するなど、他の要因も考慮にいれる必要がある。Procyanidin B1アナログ(20)とprocyanidin アナログ (26)について考察すると、これらの違いは上ユニットの水酸基の立体と、上下ユニットの結合部分の立体である。脂溶性には大きな差はないと考えられる。これらの活性の差が生じる理由については、さらに他の異性体の合成を急ぐ必要があるが、細胞内におけるAc基の分解反応が影響している可能性がある。Ac基のようなエステルは細胞内に存在するエステラーゼにより加水分解されることが多い。あくまでも仮説であるが、細胞内に入り込んだ化合物がエステラーゼによって脱アセチル化されることが活性発揮のメカニズムに関与しており、エステラーゼの反応が、化合物の立体によって影響されている可能性である。これを調べるためには細胞に化合物を添加し、培養したあと細胞を回収し破碎、その破碎液をHPLCで分析することで実際にどれだけの化合物が取り込まれたか定量することで、細胞膜を通過できるのかを調べる可以考虑。その後の化合物の立体の影響を調べるには、細胞内においてのエステラーゼなどの生体分子と化合物が相互作用を示すことが考えられる。化合物がタンパク質などと相互作用する場合、結合部位のアミノ酸と水素結合を形成することが考えられる。化合物の持つ立体によって相互作用の示しやすさ、また相互作用を示すタンパク質が異なる可能性が考えられる。これらを調べる場合、プローブ化などを行うことで生体分子への影響を調べられると考えている。

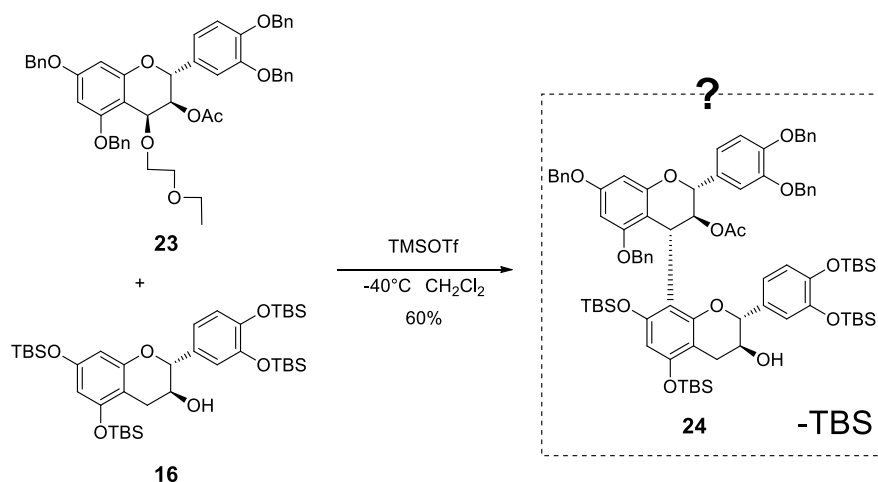
これを証明するためには、さらに異なる類縁体の合成を行う必要があり、研究室にてそれらの合成が現在進められている。

## 第4章 シリル化フラバン-3-オール の5位選択的脱保護条件の発見と応用研究

### 4-1. 背景と目的

岡本泰輔によって [58]、フェノール性水酸基を TBDMS 基で保護したフラバン-3-オール の求核体を用いて TMSOTf で縮合反応を行うと 2 量体の構造を有するが、TBDMS 基の数が異なる副生成物が得られることが見出された(Scheme 4-1)。しかし、2 量体は構造が複雑であるため、4 つある TBDMS 基のどの位置が脱保護されたのか、確認することができなかった。おそらく、下ユニットの 5 位か 7 位の TBDMS 基だと予想されたが、どの位置の TBDMS 基が脱保護されたのか、詳細にデータを取得し確認する必要があった。

この脱保護位置が選択的であるならば、その水酸基を用いて多くの応用研究、例えば、プローブ化のための可視化ユニットを導入するなどが可能となる。そこで、本研究では、構造が比較的単純な単量体を用いて脱保護位置の確認を行った。また、さらに脱保護に適した条件の探索検討を行った。



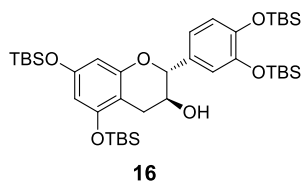
Scheme 4-1. オリゴマー合成における TBDMS 基の脱保護

### 4-2. 実験方法と結果

本実験には、(+)-catechin (1) から誘導した化合物 16 を用いた。化合物 16 に対して、様々なルイス酸やブレンステッド酸を用いて反応を行った結果の一部を Table 4-1 に示した。溶媒として、非プロトン溶媒であるジクロロメタンとプロトン性溶媒であるメタノールを選択した。

検討の結果、ジクロロメタン溶媒中 trifluoro acetic acid (TFA) を用いた場合に反応が速やかに進行することを確認でき、さらに条件検討を行った。



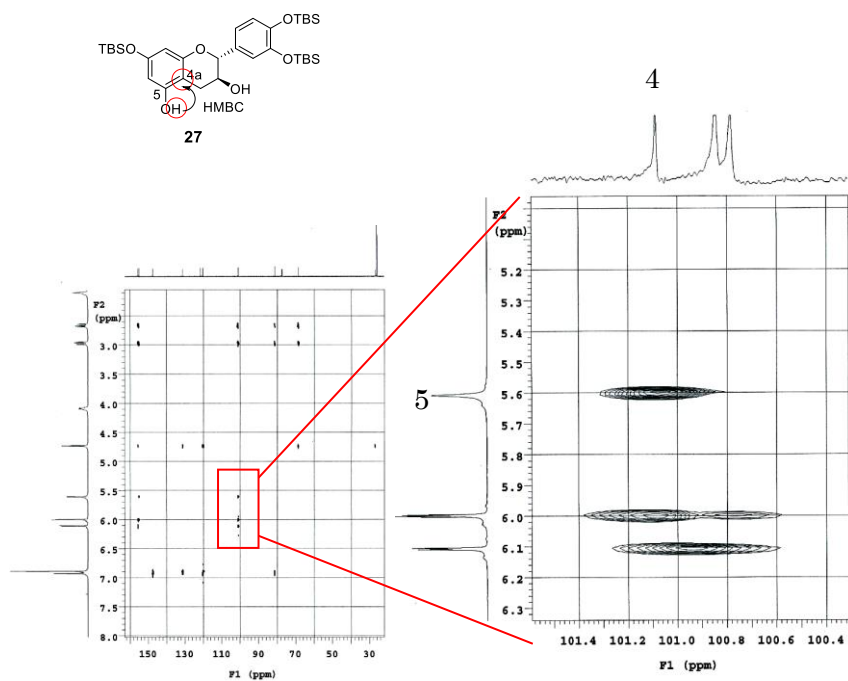


**Figure 4-1.** 検討に用いた化合物 **16** の構造

**Table 4-1.** TBDMS 基の脱保護条件検討 (Decomp. = 分解、NR = 反応せず)

	ジクロロメタン	メタノール
HCl	Decomp.	Decomp.
リン酸	Decomp.	NR
酢酸	NR	NR
<i>p</i> -TsOH	NR	NR
ギ酸	NR	NR
<b>TFA</b>	<b>○</b>	NR
ホウ酸	NR	NR
塩化亜鉛	NR	NR
安息香酸	NR	NR
アジピン酸	NR	NR
シリカゲル*	NR	NR
TiCl <sub>4</sub>	NR	
SnCl <sub>4</sub>	NR	

\*カルボン酸が導入された酸性シリカゲルである

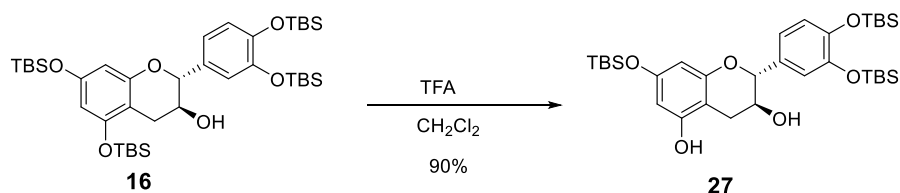


**Figure 4-2.** 得られた脱保護化合物 **27** の HMBC スペクトルと構造解析

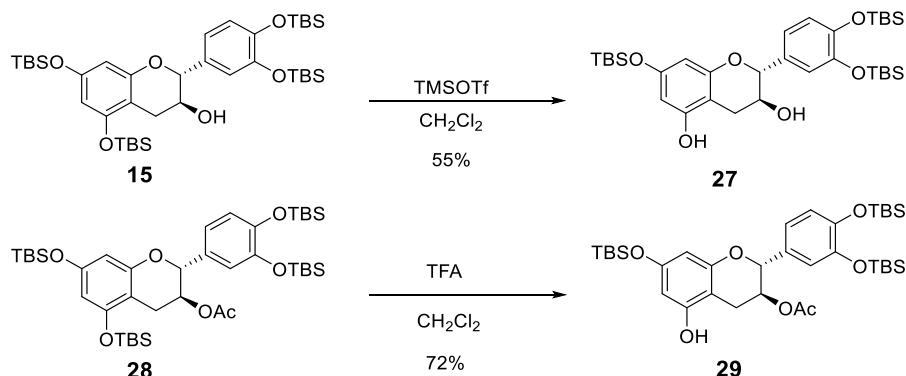
この脱保護体 **27** を二次元 NMR 測定法の一つである HMBC という手法を用いて測定した。HMBC とは長距離の相関を観測する方法で 2 または 3 離れた、H と C の相関を見ることができる手法である。原理としては H の磁化を C に移すことで生じる C の磁化の変化を観測することで C-H の結合の状態を明らかにできる。この手法を用いて脱保護された位置を確認することができた (Figure 4-2)。HMBC スペクトルにおいては、縦軸の H のピークと横軸の C のピークが直線上で交わる点にスポットが見られる場合、その H と C には、結合が 2 本または 3 本離れた位置の H と C の関係である。詳細な解析の結果、5 位の水酸基の H と **4a** の C とのクロスピークが観測されたことから、脱保護された位置は 5 位であることを決定した。もし脱保護された位置が 7 位であれば、**4a** への HMBC 相関は観測できないはずである。

これらの結果から、5 位の TBDMS 基が位置選択的に脱保護された化合物 **27** であることが確認された。収率も 90% と実用的なレベルであった (Scheme 4-2)。このような脱保護は、オリゴマー合成で用いている条件において、TMSOTf では起こるが、TiCl<sub>4</sub> や SnCl<sub>4</sub> では進行しないことも確認できた。この結果から、脱保護と縮合を酸触媒の種類で制御できる手法を見出したことになる。

また、同様な脱保護を TMSOTf で行った場合は、**27** が収率 55% で得られることが確認され TFA の方が良い条件であることを確認した。さらに、3 位を Ac 化した化合物 **28** を用いた場合は、72% の収率で化合物 **29** が得られた (Scheme 4-3)。



Scheme 4-2. 5 位選択的脱保護法の確立



Scheme 4-3. 脱保護条件の検討

#### 4-3. 考察

岡本の修士論文に記載のオリゴマー合成において、TBDMS 基が一分子脱保護される現象が見いだされていた。オリゴマーでは構造確認ができなかったことから、単量体での検討を行い、二次元 NMR を解析することにより、5 位選択的な TBDMS 基の脱保護であることを確認できた。収率も 90%程度と、実用的なレベルであり、以降で述べる 4-6 結合型オリゴマー合成研究の足掛かりとなった。5 位が脱保護される理由としては、5 位と 7 位を比較すると酸に対する反応性が 5 位の方が高く、また 5 位は電子密度が 7 位に比べて少し高いためカチオンに対する親和性が高いためだと考えている。次の章において、塩基性条件下で 7 位の脱保護が進行することから、5 位と 7 位では電子状態がことなると示唆される。一方で、B 環では脱保護は進行しない。

フラバン-3-オール類の位置選択的脱保護の報告例はこれまでになく、本研究が初めての例である。フラバン-3-オール誘導体の研究では、類似の水酸基を区別することが極めて難しく、それゆえ、選択的な合成ができなかった。本研究は、今後のフラバン-3-オール誘導体研究に対して大きな貢献をしたと言える。

## 第5章 塩基性条件下におけるシリル化フラバン-3-オール脱保護条件の発見と応用研究

### 5-1. 背景と目的

フラバン-3-オール誘導体は概論でも述べたが、(+)-catechin (**1**) や(-)-epicatechin (**2**)、(-)-EGCG (**5**) などの類縁体が存在する。化合物**1**や化合物**2**はガン細胞増殖抑制活性を持たない。一方で、**5**は中程度のガン細胞増殖抑制活性を持つことで知られている[50]。また森は、本研究で見出した酸処理による5位選択的脱保護法を応用することで、化合物**2**の3位及び、5位をガロイル基で修飾した化合物**30**に HeLa S3 細胞に対して極めて強い増殖抑制活性があることを見出した。化合物**30**の3位の立体が異なる**31**も合成したが、**31**はほとんど活性が認められなかった。ガロイル基を導入することによる活性向上については概論で既に述べたが、一か所の立体で活性が異なる例は報告されていなかった。この成果は、フラバン-3-オール誘導体も微細な構造の違いが大きく活性に影響する例として既に学術論文として報告されている[59](本学術論文にも申請者も貢献しており共著者となっているが、本博士学術論文には記載しない)。

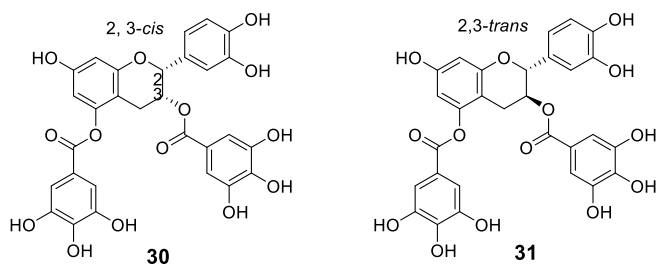


Figure 5-1. 森により合成された活性が高い**30**と活性が低い**31**

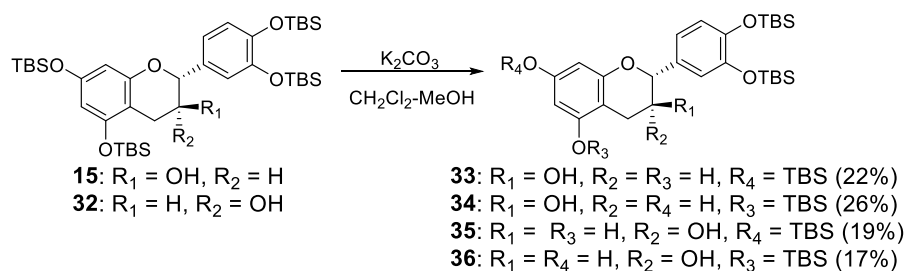
このように、構造が類似したフラバン-3-オール誘導体中でも活性に大きな差が生じることが精密有機合成によって証明されている。一方で、5位の選択的脱保護だけでは不十分であり、さらなる検討を行う必要があった。特に、7位の TBDMS 基についても、何らかの方法で脱保護することが出来るならば、さらなる類縁体の合成やそれらを用いた構造-活性相関研究の発展が見込める。とくに、ガロイル基の導入による活性向上が、導入位置によるものか確認をしなくてはならない。詳細な構造-活性相関研究のためには、7位への導入検討も必要だと考えた。7位にガロイル基が導入された化合物も天然物として知られているが[60-62]、その構造-活性相関研究についての詳細はまだ明らかになっていない。

そこで、本研究において、7位を位置選択的に脱保護して修飾する新規手法の検討と、7位のみを修飾可能な手法の開発の検討を行った。検討の結果、塩基性条件下において、7位のみ脱保護された化合物を得ることができた。同時に5位が脱保護された化合物も得られたため、完全に選択的な条件は見出すことができなかったが、この方法により、7位にガロイル基を導入した化合物の合成を達成することができた。この成果も学術論文として既に

報告している[63]。

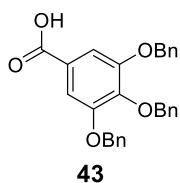
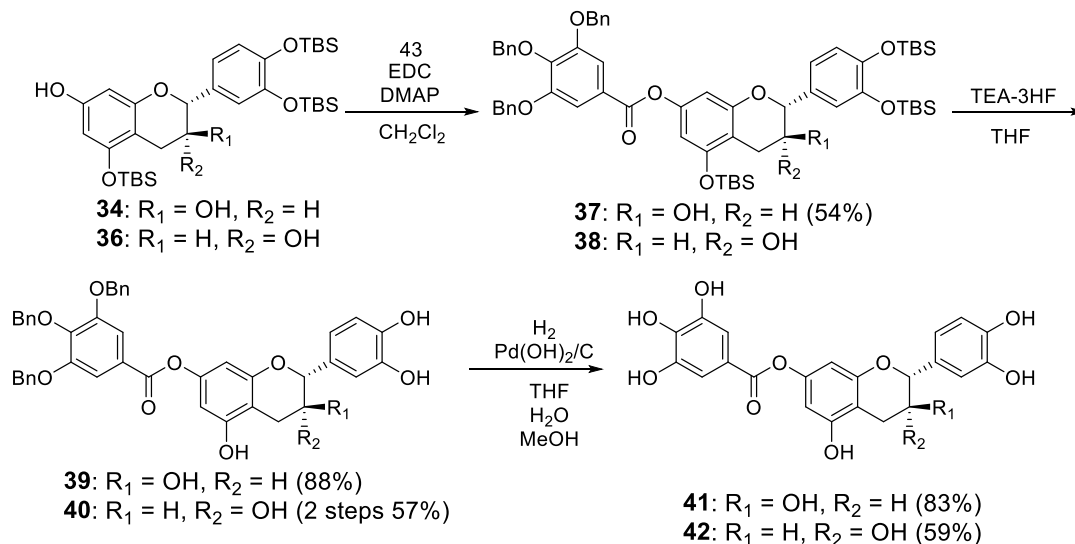
## 5-2. 実験方法と結果

Scheme 5-1 に示すように、それぞれ(+)-catechin (1)から誘導した 化合物 **15** をジクロロメタン-MeOH 混合溶媒に溶解し、炭酸カリウムを用いて 5 位あるいは、7 位の TBS 基を脱保護し、**33** を 22%、**34** を 26%の収率で得た。また(-)-epicatechin (2)から誘導した、**32** を同様に反応させることで **35** を 19%、**36** を 17%の収率で得た。



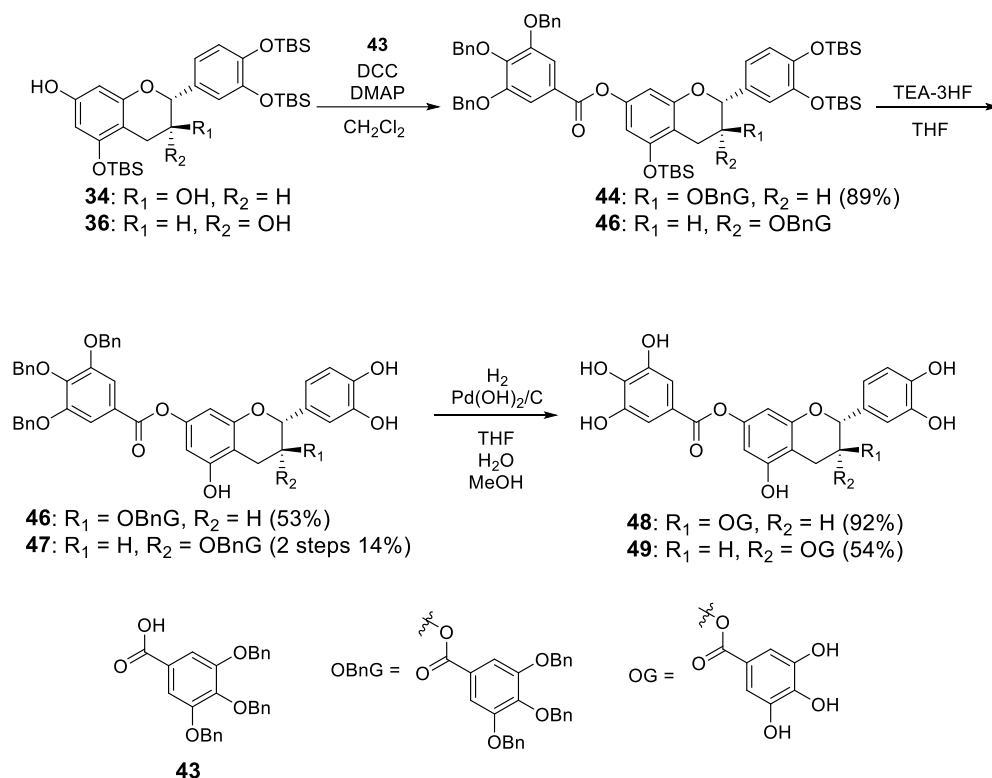
**Scheme 5-1.** 5 位、あるいは 7 位の脱保護

このように、完全な選択性は得られなかったが、酸処理条件下では脱保護されなかった 7 位脱保護体も確保することができた。この条件を見出したことにより、7 位にガロイル基を導入した化合物の合成研究が可能となった。



**Scheme 5-2.** 7 位をガロイル化したフラバン-3-オール誘導体の合成

Scheme 5-2 に示すように 7 位を脱保護した **34**、**36** それぞれをジクロロメタンで溶解し、縮合剤として EDC を用いて 7 位にガロイル基を導入し、エステル化合物 **37** を 54%の収率で、**38** を混合体として得た。さらに、HF を用いて TBS 基を脱保護し、**39** を 88%、**40** を 2 step 57%の収率で得、Pd 触媒を用いた過水素分解反応によりベンジル基を脱保護し、**41** を 83%、**42** を 59%の収率で得た。



**Scheme 5-3.** 3,7 位をガロイル化したフラバン-3-オール誘導体の合成

Scheme 5-3 に示すように 7 位を脱保護した **34**、**36** それぞれをジクロロメタンで溶解し、今度は別の縮合剤である DCC を用いて 3 位及び 7 位にガロイル基を導入し、ジガロイル誘導体 **44** を 89%の収率で、**45** を混合体として得た。さらに、HF を用いて TBS 基を脱保護し、**46** を 53%、**47** を 2step 14%、Pd 触媒を用いた水素分解反応によりベンジル基を脱保護し、**48**、**49** をそれぞれ 92%、54%の収率で得た。

これらの化合物を用いた HeLa S3 細胞に対する構造-活性相関研究を行ったところ[64]、5 位ガロイル化化合物 **28** と比較して、7 位ガロイル化化合物の活性ははるかに低いことが明らかになった。すなわち、一般的に分子内に導入することで活性を向上させると考えられているガロイル基だが、その導入位置によって大きく活性が異なることが明らかになった。

### 5-3. 考察

TBDMS 基で保護したフラバン-3-オール誘導体に対し、塩基性条件である炭酸カリウムを用いることにより、5 位、もしくは、7 位のどちらかが脱保護された化合物を単離することに成功した。この知見を用いて 7 位にガロイル基を導入したフラバン-3-オール誘導体 **41**、**42**、**48**、**49** 合成を達成できた。5 位あるいは 7 位が脱保護される理由として、5 位と 7 位の電子状態の違いにより、炭酸カリウムとメタノールにより生成されるアルコキシドとの反応性に差が出るためだと考えている。これらの合成により、ガロイル基の数や修飾位置、B 環上の水酸基の数における構造-活性相関研究が可能となった。

## 第 6 章 シリル化フラバン-3-オール の 5 位選択的脱保護を応用した 4-6 縮合型 2 量体の選択的合成研究

### 6-1. 背景と目的

序論で述べたように、天然に存在する PA は 4-8 結合型オリゴマーがほとんどであるが、一部 4-6 結合型オリゴマーが含まれる。これまでの研究により、一部の立体や修飾位置によって大きく生物活性が異なる事例が蓄積してきた。すなわち、4-8 結合型、4-6 結合型オリゴマーで大きく活性が異なる可能性もある。一方で、生物活性試験に十分な純粋な化合物量を確保できないことから、この結合位置の違いによる機能の変化（構造-活性相関）に関する報告はほとんどない。単離した化合物群について検討している例はあるが、化合物のラインナップが少なく、構造-活性相関研究まで達していないのがほとんどである。

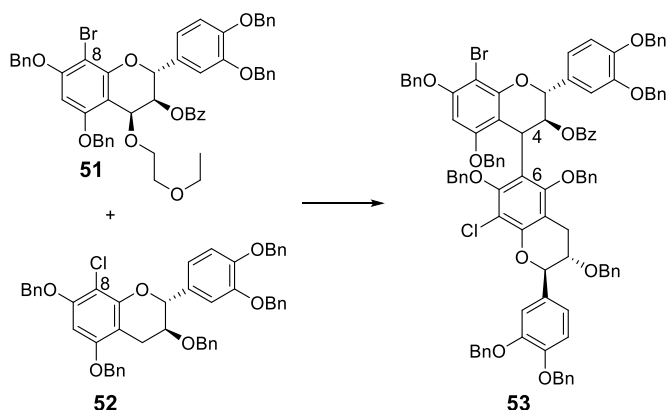
もし有機合成でこの化合物を純粋にかつ大量に得ることができるならば、詳細な生物活性試験や天然物からの抽出物の分析の標準サンプルとしてなど様々な試験を行うことが可能になる。そこで、本研究では、4-6 結合型 2 量体の立体選択的合成法の開発を行うことにした。

現時点での 4-6 結合型 2 量体についての合成例は以下のとおりである。

- 1) 求電子体と求核体の 8 位にハロゲン置換基を導入することで 8 位を物理的に反応させない環境をつくり、分子間反応で 6 位のみに反応させるようにする[51]。(Scheme 6-1)
- 2) TBS 基で保護した求核体の 5 位の保護基を選択的に脱保護し分子間反応にて縮合をおこなう。(Scheme 6-2)

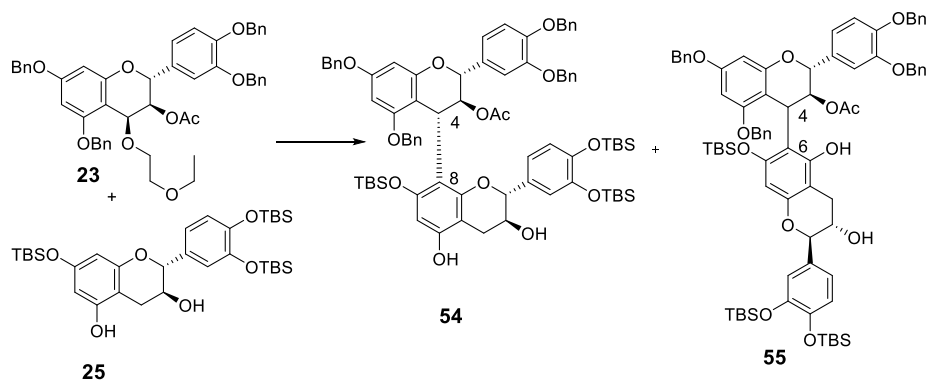
上記 1 の手法は、東京工業大学 鈴木啓介先生らが開発した方法であり、合成効率や収率もよい優れた手法である。鈴木先生らの合成法は、Bn 基で保護された求電子体 **51** と求核体 **52** の 8 位にハロゲン置換基を導入することで、8 位が反応することはない。この化合物群を用いて 6 位のみを結合に関与させることができ、高収率で 4-6 結合型 2 量体の合成を達成している。しかし上下ユニットとも同じ保護基を用いているため片方のみの保護基のかけ替えやその後の重合体の合成が難しいなど、他の様々な化合物の合成には向かないと考えられる。(Scheme 6-1)





**Scheme 6-1.** 鈴木先生らの 4-6 結合型 2 量体の合成

2 の方法は岡本が様々な実験の過程で 4-6 型オリゴマーを得る事ができた例である [58]。Bn 基で保護した求電子体 **23** と 5 位の位置選択的脱保護した求核体 **25** を用いて縮合を行ったところ、6 位のかさ高さが低下したと考えられ、通常では得られない 4-6 型オリゴマーが 10%程度得られた。この結果から、6 位付近のかさ高さを制御することによって 4-6 型オリゴマーが得られるというヒントを得た。(Scheme 6-2)

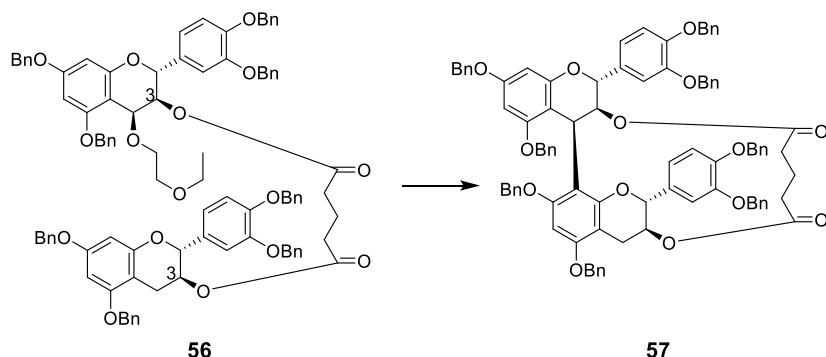


**Scheme 6-2.** 岡本による 4-6 型オリゴマー合成

また、齊藤は、以前、求電子体と求核体をリンカーで接続し、反応場を物理的に制御することで、立体選択的な分子内縮合によるオリゴマー合成法を開発し、報告してきた[32,33]。この方法は、生成するオリゴマーの長さも制御でき、また、エステルで両化合物を結合させるだけで検討ができる(Scheme 6-3)。

これらの背景から、本研究では、4 章で開発した 5 位選択的脱保護法と分子内縮合法を組み合わせることで、4-6 型オリゴマーの新規合成法の開発が可能ではないかと考え、検討を開始した。

## 6-2. 実験と結果

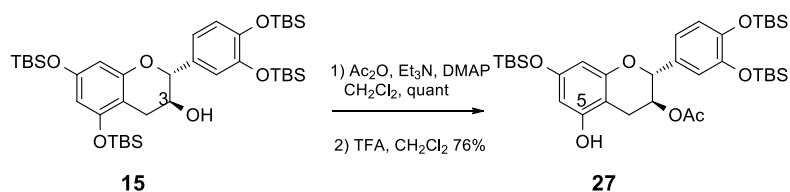


Scheme 6-3. 分子内縮合反応による 2 量体合成

前述のように、様々な PA を純粋に合成する手法が開発されている。その合成研究の一つとして分子内環化反応がある。Scheme 6-3 で示したように求電子体と求核体をあらかじめリンカー（スパーサー）で結合し、分子内で縮合反応をおこなう。リンカーで求電子体と求核体を結合させた化合物 **56** にルイス酸を反応させることにより分子内で縮合反応が進行し、環状化合物 **57** を得ることができる。

この方法では、求電子体と求核体の 3 位をリンカーで結合し、縮合反応を行うと 4-8 型 2 量体を選択的に得られた。このとき、リンカーの炭素鎖が 2 または 3 の時 3,4-*cis* 型が、炭素鎖が 7 の時 3,4-*trans* 型が選択的に得られたことから、リンカーの長さで立体を制御できることが確認されている。また、あらかじめリンカーで結合させているため、濃度を調節することで分子間反応が進行することを阻止できる。つまり長鎖のオリゴマーの生成を防ぐことができ、求電子体と求核体の 1:1 の反応である利点がある。また用いるリンカーには縮合後の除去をアルカリ加水分解や還元反応を用いておこなうことができ、さらに様々な長さが入手可能であることから、検討しやすい。

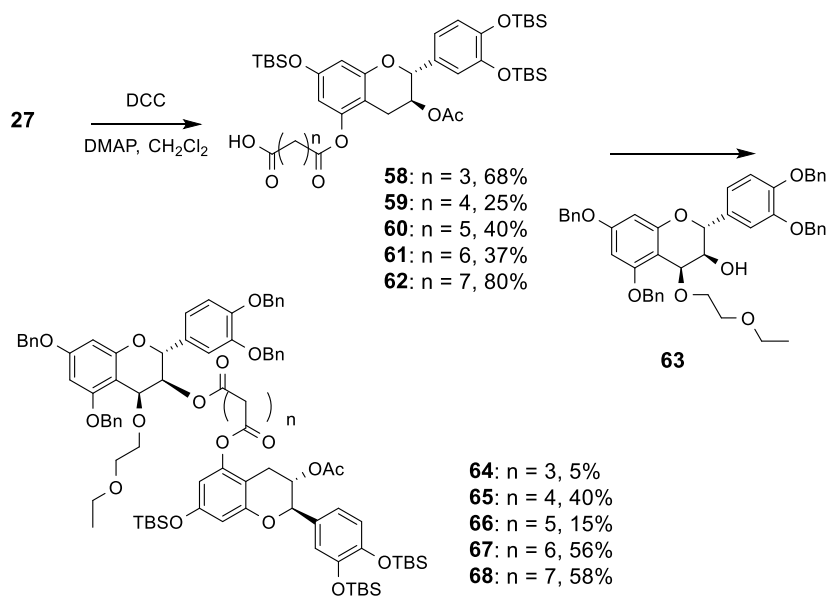
そこで本研究ではこの分子内環化反応と TBDMS 基の位置選択的脱保護を利用して新しい合成法の開発を試みた。前述のように、分子内反応では、3,4 位のあらたに形成される結合の立体をリンカーの長さにより制御することができる。ならば、ほかの部位にリンカーを結合させ分子内で縮合反応を行うことにより、新たな立体のオリゴマーの合成が可能になる可能性があると考えた。4 章で述べた位置選択的脱保護された 5 位のフェノール性水酸基にリンカーを導入し、分子内で縮合反応を行った場合、紙の上での考察では、3 位同士をリンカーで結合させた場合に比べ 4 位と 6 位が立体的に近傍に存在すると考えられ、4-6 結合の形成が有利になる可能性があると考えた。



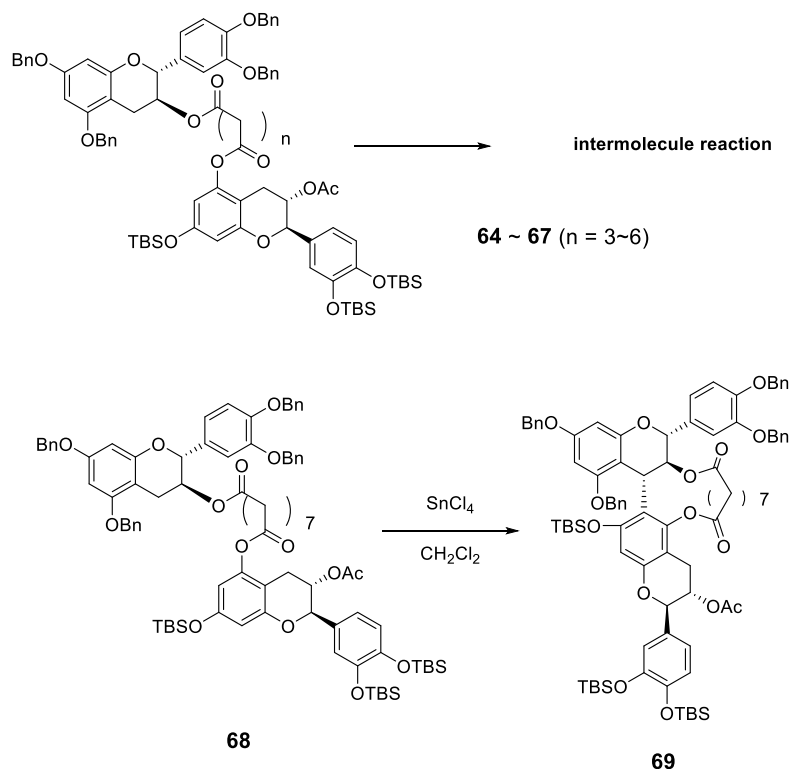
**Scheme 6-4.** 3 位のアセチル化と 5 位の脱保護

まず TBS 化された(+)-catechin (**15**)の 3 位の水酸基をアセチル基で保護した。ジクロロメタン溶媒中、無水酢酸とトリエチルアミン、DMAP を加えアセチル化し、次いで、5 位を TFA により脱保護し、**27** を得た。(Scheme 6-4)

次にこの化合物にそれぞれ長さの異なるジカルボン酸を導入した。縮合剤として DCC を用いて **27** の 5 位にリンカーを導入した化合物 **58~62** をそれぞれ、68%、25%、40%、37%、80%の収率で得た。化合物 **56~60** にそれぞれ求電子体 **63** を導入し環化反応の原料となる化合物 **64~68** を得た。この反応の収率は、それぞれ 5%、40%、15%、56%、58%であった。(Scheme 6-5)



**Scheme 6-5.** 分子内縮合反応前駆体の合成



**Scheme 6-6.** 分子内縮合反応は炭素鎖 7 の場合のみ進行した

これらの合成した化合物 **64**–**68** を用いて分子内縮合反応を行った。脱水ジクロロメタン中ルイス酸により縮合反応を行ったところ炭素鎖 3–6 の原料では分子間反応が優先し環化生成物を得ることはできなかった。一方炭素鎖 7 の原料を用いたとき、環化化合物 **69** を得ることができた。(Scheme 6-6)

過去の研究において、分子内縮合反応では、反応温度が収率に大きく関係していたことから、最適な温度で縮合を行うことができれば、速やかな反応の進行とともに副生成物の生成の減少、および、収率向上が期待できると考えた。そこで、反応温度を変えた条件検討を行った。その結果を Table 6-2 に示した。反応温度を $-10^\circ\text{C}$ に設定したとき 50%の収率で環化生成物得られた。温度が低いほど求電子ユニットのエトキシエチル基がない副生成物が確認されたため $-10^\circ\text{C}$ 前後に最適な温度があると結論付けた。

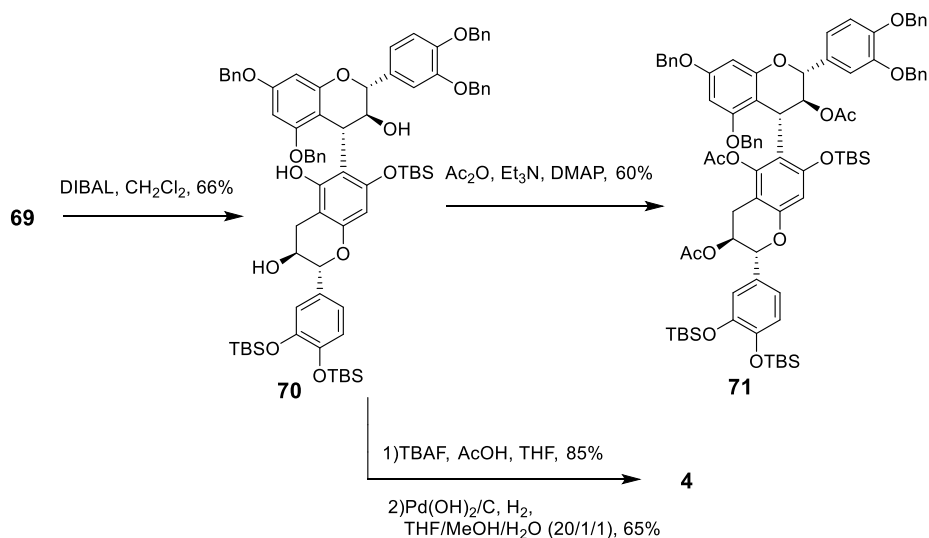
**Table 6-1.** 分子内反応における温度の影響

温度(°C)	収率(%)
-30	35
-20	42
-15	30
-10	50
0	24

環化生成物 **69** の構造解析は NMR で行おうと考えたが、NMR スペクトルにおいて、ピークのブロードニングにより解析が困難であった。ブロードニングの原因として、環状構造により分子の回転が阻害され、ゆっくりと分子運動を行っているためだと考えている。化合物 **69** そのものでは構造確認ができなかったため、リンカー除去後構造決定することにした。環化生成物 **69** を DIBAL により、還元的にリンカーを除去し化合物 **70** を得た。しかし、この化合物においても、ブロードニングにより、構造解析が出来なかった。そこで、還元により生じた化合物 **70** の水酸基をアセチル化し、化合物 **71** とし、NMR による解析を行った。このアセチル化により、ブロードニングが解消し、NMR スペクトルを解析することができた。

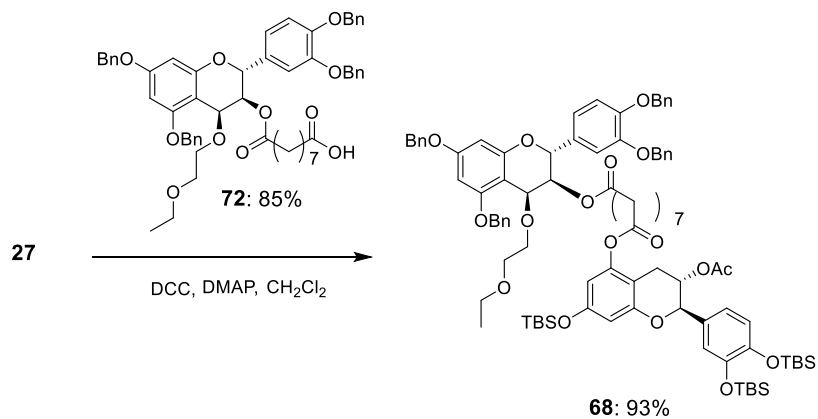
この **71** を、分子間反応で得られた 4-6 結合型二量体の NMR データと比較したところスペクトルが一致した。ゆえに、この環化生成物は 4-6 結合型であることを確認できた。また 3,4-*trans* 型が優先する分子間反応で得られた 4-6 結合型化合物とスペクトルが一致したことから 3,4-*trans* 体であると結論付けた。

化合物 **70** の TBDMS 基を TBAF で脱保護し、残った Bn 基を水素雰囲気下 Pd(OH)<sub>2</sub>/C を触媒として用いた加水素分解反応により脱保護し procyanidin B6 (**4**)を得た。(Scheme 6-7)



**Scheme 6-7.** 構造確認と Procyanidin B6 (4)の合成

また、分子内縮合反応前駆体の合成法の条件検討を進めた。その結果、5 位を脱保護した化合物 **27** に対し、リンカーを導入した求電子体 **72** を縮合した方がよい収率で生成物が得られることを確認した。従来の方法での環化原料の合成では全体的に収率が低かったがこの方法を適応すれば他の炭素鎖においても収率の改善が見込めるため検討を行った。



**Scheme 6-8.** 分子内縮合反応前駆体の別合成法

### 6-3. 考察

位置選択的に脱保護された 5 位のフェノール性水酸基にリンカーを導入し、分子内で縮

合反応を行ったところ、リンカーの炭素鎖が7の時、環化化合物を得ることができた。種々検討の結果、環化体は4-6 結合型2 量体であることが確認された。また3,4 位の立体は *trans* 体であることも確認した。これは、当初の狙い通り、分子内反応を採用することで5 位の立体障害が小さくなり、6 位との縮合反応が進みやすくなったことや、リンカーの炭素鎖が7であることが分子内反応において環化に最適な長さであったためと考えている。他の長さの炭素鎖では、反応場の限定がうまく行うことができず、分解反応、あるいは、分子間反応が優先するため環化化合物を得ることができなかったと考えている。実際に分子模型を組み立て最適な構造を構築するか確認したところ、炭素鎖の長さが7 の場合は無理なく6 位と反応する構造を取れることから、より最適な長さであったと考えている。

この反応において収率が50%程度だった原因として求核体のフェノール性水酸基である5 位を電子求引性の官能基であるエステルで置換したことにより反応性が下がったことが考えられる。実際に、条件検討として、当研究室森が、5 位をアセチル化した求核体で分子間反応を行ったところ、求核体の反応性が低いために、求電子体同士の縮合が優先することが確認されている。今回分子内で反応させることで反応性の低い求核体を用いての縮合が可能になったが、これは、反応場を限定することによる効果だと考えられる。このことから、この分子内縮合反応は、様々な合成研究へと応用できる手法であると考えている。

環化原料の合成として求電子体にリンカーを導入し、求核体を縮合するという手順で合成をおこなうと環化原料の収率を向上させることができた。これについては、求核体の3 位の水酸基と5 位のフェノール性水酸基の反応性の違いがあり、5 位の水酸基の反応性が高いこと、またリンカーのみを反応させる場合とユニットに導入されたリンカーを反応させるのでは後者の反応性が低いため3 位に導入するより5 位に導入する方が反応の進行がしやすくなったことが要因だと考えている。

また東工大、鈴木先生らの合成法と比べた場合、2 量体合成の収率、効率においては今回私が開発した合成法は劣るが、さらなる展開が可能な点、及び当研究室で見出された上下ユニットのどちらかをアセチル化することによる活性の変化(3 章参照)を4-6 結合型2 量体でも応用できることから価値があると考えている。

TBDMS 基で保護した求核体を用いた分子間反応で4-6 結合型を合成した場合、縮合の段階で6%のトータル収率であるが分子内環化反応で同様の立体を合成した場合20%の収率でえることができる。また最終物までのトータルの収率は10%ほどであり分子内環化反応での合成の効率良いと考えている。

## 第 7 章 実験項

全ての合成反応はアルゴン雰囲気下で行い、反応進行の確認はメルク社の 0.25 nm シリカゲルプレート 60F<sub>254</sub> Art 5715 の薄層クロマトグラフィーを使用した。シリカゲルクロマトグラフィーは、関東化学株式会社 SilicaGel 60N (spherical, neutral) 63-210 mm を用い、分取用薄層クロマトグラフィーはメルク社の 0.5 mm シリカゲルプレート 60F<sub>254</sub>Art5477 を用いた。合成に用いた試薬、溶媒は、全て特級のグレードを使用した。HPLC 分取は、HITACHI L-4000UV Detector, L-6000 Pump, L-6200 Intelligent Pump によって行い、試薬は HPLC 用のグレードを使用した。スペクトル測定は以下の機器を使用した。旋光度は、ATAGO AP-300 により測定した。<sup>1</sup>H 核磁気共鳴スペクトルは Agilent Inova 500 (500 MHz)、および、Agilent DD2 NMR (400 MHz)を使用した。NMR 測定は CDCl<sub>3</sub>、または、CD<sub>3</sub>OD 中に行った。質量スペクトルは、JEOL JMS-AX500 を使用した。

### [4,8]-2,3-*trans*-3,4-*trans*-2'',3''-*trans*-3-Acetoxy-5,7,3',4'-tetra-*O*-benzyl-7'',3''',4'''-tri-*O*-TBDMS-(+)-catechin-(+)-catechin (**24**)

アルゴン雰囲気下、求電子体 **19** (0.015 g, 0.019 mmol)、求核体 **16** (0.051 g, 0.077 mmol) を脱水ジクロロメタン (20 mL) 溶液に溶解し、-40°C で 0.5 M TMSOTf (0.05 mL) を滴下し、飽和炭酸水素ナトリウムを加え反応を止め室温に戻した。CHCl<sub>3</sub> で抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過・濃縮後、カラムクロマトグラフィー(*n*-hexane : EtOAc = 8 : 1 → 6 : 1 → 5 : 1 → 4 : 1 → 3.5 : 1 → 3 : 1 → 2.5 : 1 → 2 : 1) にて分離し、二量体 **20** (0.012 g, 0.015 mmol, 73%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 0.6: 0.4 mixture of rotational isomers) major: 7.45-6.78 (15.6H, m, ), 6.19 (0.6H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.17 (0.6H, d, *J* = 1.5 Hz), 5.94 (0.6H, s, D6), 5.87 (0.6H, t, *J* = 8.5 Hz, C3), 5.16-4.47 (0.6H, m), 3.56-3.51 (0.6H, m, F3), 3.21 (0.6H, d, *J* = 8.5 Hz), 2.84 (0.6H, dd, *J* = 6.0, 15.5 Hz, F4), 2.22 (0.6H, dd, *J* = 9.5, 15.5 Hz, F4), 1.60 (1.8H, s, Ac), 0.10 (5.4H, s), 0.99 (5.4H, s), 0.85 (5.4 H, s), 0.26-0.08 (10.8 Hz); minor: 7.46-6.78 (8.9H, m), 6.65 (0.4H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.61 (0.4H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.33 (0.44H, d, *J* = 8.0), 6.12 (0.4H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.06 (0.4H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.01 (0.4H, t, *J* = 10.0 Hz, C3), 5.91 (0.4H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 5.78 (0.4H, s, D6), 5.16-4.47 (4.4H, m), 4.05-3.98 (0.4H, m, F3), 2.68-2.60 (0.8H, m, F4), 1.53 (1.2H, s, Ac), 0.98 (0.6H, s), 0.95 (3.6H, s), 0.90 (3.6H, s), 0.26-0.08 (7.2H, m).

### [4,8]-2,3-*trans*-3,4-*trans*-2'',3''-*trans*-3,3'',5'',7'',3''',4'''-hexa-acetoxy-(+)-catechin-(+)-catechin (**25**)

アルゴン雰囲気下、2 量体 (0.240 g, 0.16 mmol) を THF (20 mL) 溶液に溶解し、氷冷下、酢酸 (0.09 mL, 1.59 mmol) を滴下し、1M TBAF (1.59 mL) を滴下し、2 時間攪拌した後、ジクロロメタン (30 mL) を加え、氷冷下で Et<sub>3</sub>N (0.44 mL, 3.2 mmol) を滴下し、無水酢酸 (0.07



mL, 1.6 mmol) を滴下し、DMAP を触媒量加え、10 分攪拌した後カラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = (4 : 1 → 2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2 → 1 : 4) にて分離し、2 量体 (0.165 g, 0.14 mmol, 87%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 0.75 : 0.25 mixture of rotational isomers) major δ: 7.49-6.96 (18H, m), 7.16 (0.75H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.91 (0.75H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.55 (0.75H, s, D6), 6.21 (0.75H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.18 (0.75H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.63 (0.75H, t, *J* = 9.59 Hz, C3), 5.21-4.34 (7.5H, m), 3.22 (0.75H, d, *J* = 9.6 Hz, C4), 2.99 (0.75H, d, *J* = 6.0, 16.4 Hz, F4), 2.71 (0.75H, d, *J* = 5.2 Hz, 16.4 Hz, F4), 2.31 (2.25H, s), 2.30 (2.25 H, s), 2.29 (4.5H, s), 1.54 (4.5H, s); mimor: 7.49-6.96 (5H, m), 6.86 (0.25H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.84 (0.25H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.81 (0.25H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.74 (0.25H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.72 (0.25H, d, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.47 (0.25H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.43 (0.25 H, s, D6), 6.17 (0.25H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.06 (0.25H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.81 (0.25H, dd, *J* = 8.8, 10.4 Hz, C3), 5.21-4.34 (0.25H, m), 3.26 (0.25H, d, *J* = 10 Hz), 3.97-3.02 (0.25H, m, F4), 2.70-2.60 (0.25H, m, F4), 2.45 (0.75H, s), 2.19 (0.75H, s), 2.15 (0.75H, s), 2.11 (0.75H, s), 1.76 (0.75H, s), 1.60 (0.75H, s)

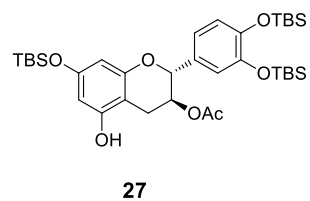
[4,8]-2,3-*trans*-3,4-*trans*-2'',3''-*trans*-3,3'',5'',7'',3''',4'''-Penta-acetoxy-(+)-catechin-(+)-catechin (26)

2 量体 (0.085 g, 0.071 mmol) を THF (20 ml) : メタノール (1.0 ml) : H<sub>2</sub>O (1.0 ml) の混合溶媒に溶解し、水酸化パラジウムを触媒量加え、水素雰囲気下、室温にて 6 時間攪拌を行った。ろ過・濃縮後、薄層クロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 4) にて分取。2 量体 (0.053g, 0.064mmol, 90%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.06 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.97 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.84 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.69 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.60 (1H, s, D6), 6.57 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.60-6.50 (1H, m, -OH), 6.37 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.29 (1H, br, OH), 6.28 (1H, br, OH), 5.86 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, A8), 5.82 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, A6), 5.78 (1H, br, OH), 5.47 (1H, dd, *J* = 8.8, 9.6 Hz, C3), 4.96 (1H, ddd, *J* = 6.4, 8.8, 8.8 Hz, F3), 4.80 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.59 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 4.30 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 3.00 (1H, dd, *J* = 6.4, 16.8 Hz), 2.62 (1H, dd, *J* = 8.8, 16.8 Hz), 2.35 (3H, s), 2.32 (3H, s), 2.30 (3H, s), 2.25 (3H, s), 2.04 (3H, s), 1.91 (3H, s)

**3-Acetoxy-3',4',7-tri(*t*-butyldimethylsilyloxy)-(+)-catechin (27)**

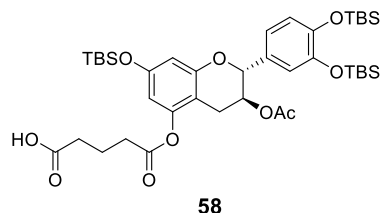
化合物 **26** (270 mg, 0.34 mmol) をジクロロメタン 30 mL に溶解し TFA (0.031 mL, 0.41 mmol) を加え攪拌し飽和重曹水を加えクロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/1 7/1 6/1 5/1 3/1 ) で精製し化合物 **27** (176mg, 0.26 mmol, 76%) を得た。



$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6.74 (1H, br), 6.71 (2H, br), 5.99 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 5.89 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 5.19 (1H, ddd,  $J = 5.5, 5.5, 6.0$  Hz), 4.92 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 2.73 (1H, dd,  $J = 5.5, 7.0$  Hz), 2.59 (1H, dd,  $J = 6.0, 17.0$  Hz), 2.35 (1H, br), 1.88 (3H, s), 0.89-0.83 (27H, m), 0.11 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.05 (3H, s), 0.03 (3H, s);  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 170.5, 155.5, 155.0, 154.6, 147.0, 146.8, 131.0, 121.1, 119.4, 119.1, 100.6, 100.3, 100.0, 77.8, 69.3, 25.9 (x2), 25.7, 23.1, 21.1, -4.06, -4.11, -4.15, -4.24, -4.40, -4.43; FABMS ( $m/z$ ): 676 (12), 675 ( $\text{M}^+\text{H}$ , 12), 674 (6), 617 (13), 616(23), 615(45), 614(23), 613 (14), 558 (10), 557(20), 444 (10), 443 (29), 368 (26), 367 (81), 351 (66), 277(28), 254 (18), 253 (86), 205 (16), 179 (100); HRFABMS:  $m/z$  ( $\text{M}^+\text{H}$ ) Calcd. for  $\text{C}_{35}\text{H}_{59}\text{O}_7\text{Si}_3$ , 675.3569; Found, 675.3563

### 5-Glutaric acid ester (58)

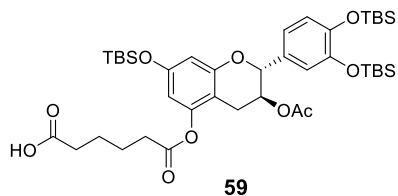
化合物 **27** (173 mg, 0.2 mmol)を脱水ピリジン 10 mL に溶解し、グルタル酸無水物 (118 mg, 0.4 mmol)と DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー



(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/1 6/1 4/1 chloroform/methanol 100/1 80/1 50/1 40/1 20/1 )で精製し化合物 **58** (133 mg, 0.17 mmol, 68%)を得た。

### 5-Adipic acid ester (59)

化合物 **27** (500 mg, 0.76 mmol)を脱水ジクロロメタン 30 mL に溶解し、アジピン酸 (332 mg, 2.23 mmol)と DCC (187 mg 0.91mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー

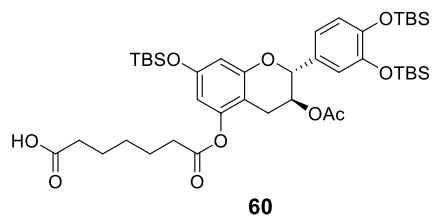


(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/17/1 6/15/1 4/1 3/1 2/1 1/1)で精製し化合物 **59** (160 mg, 0.2 mmol, 25%)で得た。

$[\alpha]_D^{24} +26.3$  (c 0.305,  $\text{CHCl}_3$ );

### 5-Suberic acid ester (60)

化合物 **27** (770 mg, 1.17 mmol)を脱水ジクロロメタン 40 mL に溶解し、ピメリン酸 (576 mg, 3.5 mmol)と DCC (289 mg, 1.4mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー



ラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/17/1 6/15/1 4/1 3/1 2/1 1/1)で精製し化合物 **60** (451 mg, 0.55

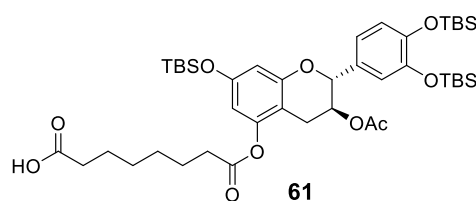
mmol, 40%)を得た。

$[\alpha]_D^{24} +27.3$  (*c* 0.55,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6.80-6.76 (3H, m), 6.36 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 6.23 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 5.23 (1H, ddd,  $J = 5.2, 6.4, 6.6$  Hz), 4.99 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz), 2.76 (1H, dd,  $J = 5.2, 16.4$  Hz), 2.56 (1H, dd,  $J = 6.6, 16.4$  Hz), 2.53 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 2.38 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.79-1.65 (4H, m), 1.49-1.42 (2H, m), 0.974 (9H, s), 0.967 (9H, s), 0.94 (9H, s), 0.21 (6H, s), 0.19 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.14 (3H, s), 0.12 (3H, s); the carboxylic proton was not detected.

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 178.5, 171.2, 170.2, 155.2, 154.8, 149.7, 147.0, 146.9, 130.7, 121.1, 119.5, 119.2, 107.2, 105.54, 105.50, 78.1, 68.9, 34.0, 33.7, 28.7, 28.6, 25.90, 25.89, 25.6, 24.7, 24.5, 23.8, 21.0, 18.43, 18.42, 18.12, -4.09, -4.11, -4.18, -4.24, -4.46, -4.48;

### 5-Suberic acid ester (61)

化合物 **27** (306 mg, 0.45 mmol) を脱水ジクロロメタン 30 mL に溶解し、スベリン酸 (234 mg, 1.35 mmol) と DCC (185 mg, 0.54 mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲル

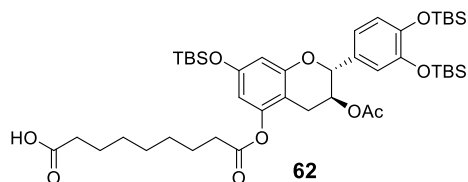


ルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/17/1 6/15/1 4/1 3/1 2/1 1/1) で精製し化合物 **61** (133 mg, 0.16 mmol, 37%) で得た。

$[\alpha]_D^{24} +40$  (*c* 0.175,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6.81-6.76 (3H, m), 6.36 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 6.23 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 5.23 (1H, ddd,  $J = 5.2, 6.2, 6.5$  Hz), 4.99 (1H, d,  $J = 6.2$  Hz), 2.75 (1H, dd,  $J = 5.2, 16.4$  Hz), 2.56 (1H, dd,  $J = 6.5$  Hz), 2.52 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 2.36 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.95 (3H, s), 1.75-1.61 (4H, m), 1.45-1.34 (4H, m), 0.973 (9H, s), 0.966 (9H, s), 0.94 (9H, s), 0.20 (6H, s), 0.19 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.14 (3H, s), 0.12 (3H, s); the carboxylic proton was not detected.  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 178.9, 171.1, 170.3, 155.2, 154.8, 149.7, 147.7, 147.0, 146.9, 130.7, 121.1, 119.5, 119.2, 107.2, 105.55, 105.53, 78.1, 68.9, 33.9, 33.7, 28.5, 25.9(x2), 25.6, 24.5, 24.3, 23.9, 21.1, 18.44, 18.43, 18.1, -4.08, -4.11, -4.18, -4.24, -4.46, -4.48.

### 5-Azelaic acid ester (62)

化合物 **27** (470 mg, 0.7 mmol) を脱水ジクロロメタン 30 mL に溶解し、アゼライン酸 (394 mg, 2.0 mmol) と DCC (173 mg, 0.83 mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt, 10/1 8/17/1 6/15/1 4/1 3/1 2/1 1/1) で精製し化合物 **62** (470 mg, 0.53 mmol, 80%) で得た。

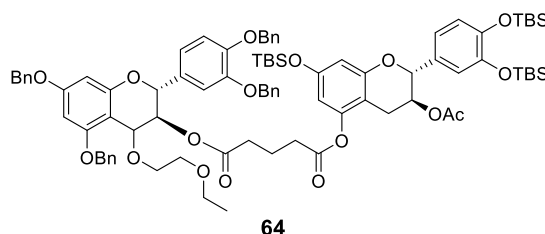


$[\alpha]_D^{24} +196.2$  (*c* 0.50,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 10.40-10.10 (1H, br), 6.80 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz), 6.80 (1H, 1.8 Hz), 6.77 (1H, dd,  $J = 1.8, 8.3$  Hz), 6.36 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 6.23 (1H, d,  $J =$

2.4 Hz), 5.23 (1H, ddd,  $J = 5.2, 6.3, 6.4$  Hz), 2.75 (1H, dd,  $J = 5.2, 16.5$  Hz), 2.56 (1H, dd,  $J = 6.4, 16.5$  Hz), 2.51 (2H, t,  $J = 7.7$  Hz), 2.35 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 1.95 (3H, s), 1.78–1.60 (4H, m), 1.43–1.30 (6H, m), 0.97 (9H, s), 0.96 (9H, s), 0.94 (9H, s), 0.20 (6H, s), 0.185 (3H, s), 0.175 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.12 (3H, s);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 171.4, 171.3, 170.4, 155.3, 154.9, 149.9, 147.1, 147.0, 130.8, 121.2, 119.6, 119.3, 107.4, 105.7, 105.6, 78.2, 69.0, 34.3, 34.0, 29.02, 28.96, 28.94, 26.04, 26.03, 25.7, 24.9, 24.7, 23.9, 21.6, 18.6, 18.3,  $-3.95, -3.98, -4.05, -4.10, -4.32, -4.35$ ; ESIMS ( $m/z$ ) 1153 (61), 1152 (68), 1151 (80), 1076 (43), 1075 (79), 1074 (100), 869 (18), 868 (37), 687 ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 56); ESIHRMS Calcd for  $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{10}\text{Si}_3\text{Na}$ , 867.4331; Found, 867.4340.

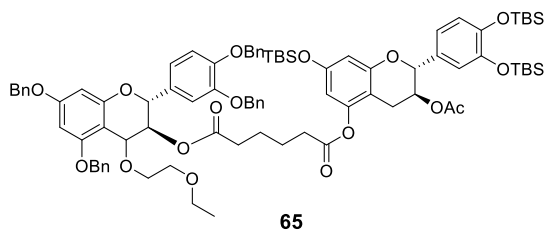
#### 環化反応前駆体 (64)

化合物 **58** (133 mg, 0.17 mmol) を脱水ジクロロメタン 10 mL に溶解し、求電子体 **63** (161 mg, 0.2 mmol) と DCC (42 mg, 0.2 mmol) DMAP を触媒量加え撹拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し化合物 **64** を(12 mg, 0.007 mmol, 5%)で得た



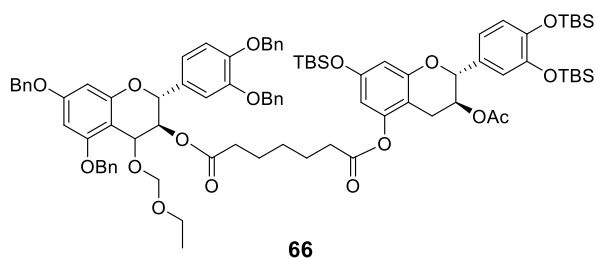
#### 環化反応前駆体 (65)

化合物 **59** (61 mg, 0.07 mmol) を脱水ジクロロメタン 10 mL に溶解し、求電子体 **63** (67 mg, 0.08 mmol) と DCC (17 mg, 0.08 mmol) DMAP を触媒量加え撹拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し化合物 **65** を (21 mg, 0.013 mmol, 5%)で得た。



#### 環化反応前駆体 (66)

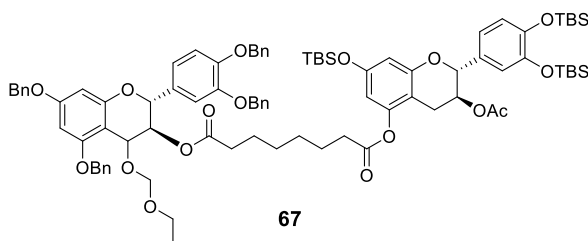
化合物 **60** (110 mg, 0.12 mmol) を脱水ジクロロメタン 20 mL に溶解し、求電子体 **63** (114 mg, 0.14 mmol) と DCC (30 mg, 0.14 mmol) DMAP を触媒量加え撹拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し



化合物 **66** を (73 mg, 0.048 mmol, 40%)で得た。

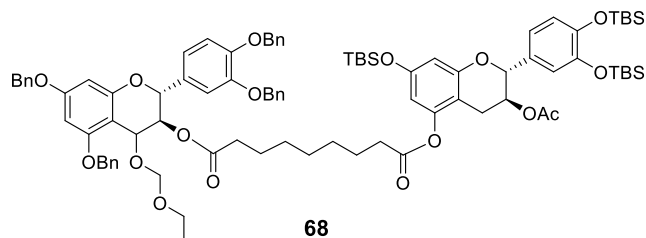
#### 環化反応前駆体 (**67**)

化合物 **61** (35 mg, 0.04 mmol)を脱水ジクロロメタン 10 mL に溶解し, 求電子体 **63** (37 mg, 0.14 mmol)と DCC (10 mg, 0.05 mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し化合物 **67** を (9.0 mg, 0.059 mmol, 15%)で得た。



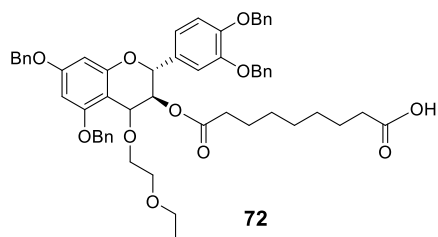
#### 環化反応前駆体(**68**)

化合物 **62** (339 mg, 0.40 mmol)を脱水ジクロロメタン 20 mL に溶解し, 求電子体 **63** (766 mg, 1.00 mmol)と DCC (99.0 mg, 0.48 mmol) DMAP を触媒量加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し化合物 **68** を (368 mg, 0.24 mmol, 58%)で得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> +91.0 (*c* 0.61, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 747–7.28 (20H, m), 7.07 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.98 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.3 Hz), 6.92 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.80 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.80 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.3 Hz), 6.78 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.36 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.24 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.22 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.13 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.27 (2H, s), 5.26–5.21 (1H, m), 5.14 (2H, s), 5.13 (2H, s), 5.16 (1H, d, *J* = 11.6 Hz), 5.02 (1H, d, *J* = 11.6 Hz), 5.00–4.87 (3H, m), 4.85 (1H, br s), 3.80–3.70 (2H, m), 3.49–3.37 (4H, m), 2.74 (1H, dd, *J* = 5.2, 16.4 Hz), 2.51 (1H, dd, *J* = 6.8, 16.4 Hz), 2.43 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.13–1.94 (2H, m), 1.92 (3H, s), 1.71–1.06 (10H, m), 0.974 (9H, s), 0.965 (9H, s), 0.94 (9H, s), 0.20 (6H, s), 0.19 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.14 (3H, s), 0.12 (3H, s); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.5, 171.4, 170.2, 161.0, 158.6, 155.9, 155.3, 155.0, 149.9, 149.4, 149.1, 147.1, 147.0, 137.33, 137.30, 136.74, 136.66, 130.8, 130.7, 128.8, 128.7, 128.6, 128.24, 128.19, 128.95, 128.92, 128.88, 127.7, 127.6, 127.3, 121.6, 121.2, 119.6, 119.3, 114.8, 114.6, 107.4, 105.7, 105.6, 103.8, 94.4, 93.9, 78.3, 74.5, 72.5, 71.42, 71.36, 71.0, 70.6, 70.2, 69.9, 68.9, 68.7, 66.5, 34.24, 34.19, 29.06, 29.04, 28.9, 26.0 (x2), 25.7, 25.0, 24.7, 24.0, 21.1, 18.6 (x2), 18.3, 15.4, –3.94, –3.97, –4.04, –4.09, –4.31, –4.34; ESIMS (*m/z*) 1591 (29), 1590 (59), 1589 (89), 1588 ([*M* + Na]<sup>+</sup>, 76); 472 (30), 471 (100); ESIHRMS Calcd for C<sub>91</sub>H<sub>116</sub>O<sub>17</sub>Si<sub>3</sub>Na, 1587.7418; Found, 1587.7413.



### 3-Azelaic acid ester (72)

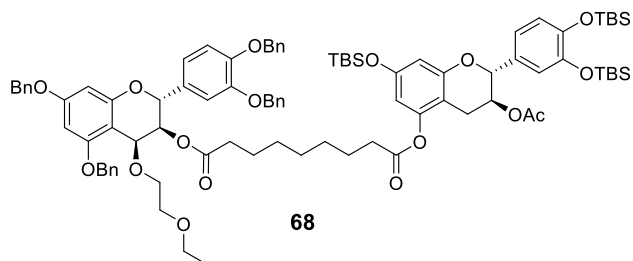
アゼライン酸 (700 mg, 3.72 mmol)を脱水ジクロロメタン 30 mL に溶解し、塩氷で冷却しながら DCC (766 mg, 3.72 mmol) を dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で溶解したものを滴下し DMAP を触媒量加えた。その後化合物 **27** (744 mg, 0.93 mmol)を加え攪拌した。その後



水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt, 10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1 2/1 1/1)で精製し化合物 **72** を (700 mg, 0.77 mmol, 85%)で得た。

### 環化反応前駆体(68)

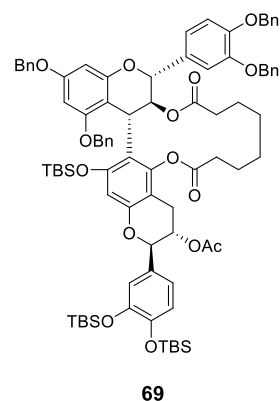
アゼライン酸を導入した求電子体 **72** ( 484 mg, 0.55 mmol)を脱水ジクロロメタン 30 mL に溶解し、塩氷で冷却しながら DCC (137 mg, 0.66 mmol) を dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で溶解したものを滴下し DMAP を加えた。その後化合物 **27**



(493 mg, 0.76 mmol)加え攪拌した。その後水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮しシリカゲルクロマトグラフィー(*n*-hexane/AcOEt、10/1 9/1 8/1 7/1 6/15/1 4/1 3/1)で精製し化合物 **68** を (795 mg, 0.51 mmol, 93%)で得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> +91.0 (*c* 0.61, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 747–7.28 (20H, m), 7.07 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.98 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.3 Hz), 6.92 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.80 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.80 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.3 Hz), 6.78 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.36 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.24 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.22 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.13 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.27 (2H, s), 5.26–5.21 (1H, m), 5.14 (2H, s), 5.13 (2H, s), 5.16 (1H, d, *J* = 11.6 Hz), 5.02 (1H, d, *J* = 11.6 Hz), 5.00–4.87 (3H, m), 4.85 (1H, br s), 3.80–3.70 (2H, m), 3.49–3.37 (4H, m), 2.74 (1H, dd, *J* = 5.2, 16.4 Hz), 2.51 (1H, dd, *J* = 6.8, 16.4 Hz), 2.43 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.13–1.94 (2H, m), 1.92 (3H, s), 1.71–1.06 (10H, m), 0.974 (9H, s), 0.965 (9H, s), 0.94 (9H, s), 0.20 (6H, s), 0.19 (3H, s), 0.18 (3H, s), 0.14 (3H, s), 0.12 (3H, s); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.5, 171.4, 170.2, 161.0, 158.6, 155.9, 155.3, 155.0, 149.9, 149.4, 149.1, 147.1, 147.0, 137.33, 137.30, 136.74, 136.66, 130.8, 130.7, 128.8, 128.7, 128.6, 128.24, 128.19, 128.95, 128.92, 128.88, 127.7, 127.6, 127.3, 121.6, 121.2, 119.6, 119.3, 114.8, 114.6, 107.4, 105.7, 105.6, 103.8, 94.4, 93.9, 78.3, 74.5, 72.5, 71.42, 71.36, 71.0, 70.6, 70.2, 69.9, 68.9, 68.7, 66.5, 34.24, 34.19, 29.06, 29.04, 28.9, 26.0 (x2), 25.7, 25.0, 24.7, 24.0, 21.1, 18.6 (x2), 18.3, 15.4, –3.94, –3.97, –4.04, –4.09, –4.31, –4.34; ESIMS (*m/z*) 1591 (29), 1590 (59), 1589 (89), 1588 ([M + Na]<sup>+</sup>, 76); 472 (30), 471 (100); ESIHRMS Calcd for C<sub>91</sub>H<sub>116</sub>O<sub>17</sub>Si<sub>3</sub>Na, 1587.7418; Found, 1587.7413.

#### 環化生成物 (69)

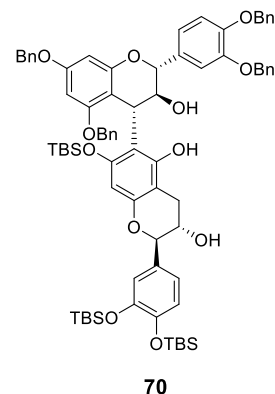
化合物 **68** (165 mg, 0.10 mmol)を脱水ジクロロメタン 60 mL に溶解し、-10~0℃で撹拌した。その後 Tin(IV)Chloride を滴下し飽和重曹水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し PLC (*n*-hexane/AcOEt = 5 : 1) で精製し化合物



**69** を (107 mg, 0.07 mmol, 72%) で得た。 $[\alpha]_D^{24} + 130$  (*c* 0.20, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.50–7.28 (21H, m), 7.17 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 6.96 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.5 Hz), 6.90 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 6.83 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.76 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.5 Hz), 6.31 (1H, s), 6.19 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.09 (1H, br s), 5.95 (1H, t, *J* = 9.5 Hz), 5.20–4.90 (9H, m), 4.74 (1H, d, *J* = 9.5 Hz), 4.58 (1H, d, *J* = 9.5 Hz), 2.70–2.60 (1H, m), 2.51 (1H, dd, *J* = 8.5, 15.5 Hz), 2.42–1.27 (14H, m), 1.57 (3H, s), 1.00 (9H, s), 0.98 (9H, s), 0.83 (9H, s), 0.29 (6H, s), 0.21 (12H, s); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 171.8, 156.7, 158.5, 153.3, 152.7, 149.2, 149.1, 149.0, 146.9, 146.7, 137.3, 137.2, 137.0, 130.1–127.3 (Cx24), 121.0, 116.3, 114.6, 107.4, 103.9, 95.3, 94.8, 81.5, 78.0, 71.2, 71.23, 71.17, 70.1, 69.2, 37.7, 34.0, 32.0, 29.7, 26.9, 26.3, 26.2, 26.0, 25.9, 25.6, 21.0, 18.8, 18.4, 0.0, -3.4, -3.9, -4.10, -4.14; ESIMS (*m/z*) 1500 (30), 1499 (45), 1498 ([M + Na]<sup>+</sup>, 41); 741 (25), 740 (55), 713 (44), 712 (100), 685 (20), 684 (49); ESIHRMS Calcd for C<sub>87</sub>H<sub>106</sub>O<sub>15</sub>Si<sub>3</sub>Na, 1497.6737; Found, 1497.6732.

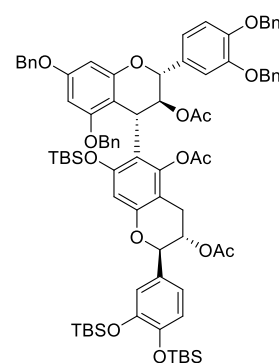
#### 4-6 結合型化合物 (70)

化合物 **69** (5.0 mg, 0.003 mmol)を脱水ジクロロメタン 5 mL に溶解し、-78℃まで冷却しながら DIBAL (30 μL, 30 mmol)を滴下しながら撹拌した。飽和塩化アンモン水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し PLC (*n*-hexane/AcOEt =



2 : 1) で精製し化合物 **70** を (3.0 mg, 0.002 mmol, 66%) で得た。 $[\alpha]_D^{24} + 80.0$  (*c* 0.05, CHCl<sub>3</sub>); The NMR signals were not identified because of peak broadening. FABMS (*m/z*): 1282 (3.6, M<sup>+</sup>+H), 1281 (2.8), 1263 (1.2), 933 (6.7), 932 (9.0), 931 (12), 844 (5.9), 843 (9.1), 842 (13), 723 (15), 722 (24), 650 (19), 649 (39), 393 (37), 352 (31), 351 (100); HRFABMS: *m/z* (M<sup>+</sup>+H) Calcd. for C<sub>76</sub>H<sub>93</sub>O<sub>12</sub>Si<sub>3</sub>, 1281.5975; Found, 1281.6067.

#### 4-6 結合型アセチル化体(71)



化合物 **70** (3.0 mg, 0.003 mmol) をジクロロメタン 5 mL に溶解し Et<sub>3</sub>N (8.3  $\mu$ L, 0.06 mmol) と無水酢酸 (4.2  $\mu$ L, 0.045 mmol) 滴下し、触媒として DMAP を加え攪拌した。純水を加えクロロホルム抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し PLC (*n*-hexane/AcOEt = 3 : 1) で精製し化合物 **71** を (2.0 mg, 0.0014 mmol, 60%) で得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> + 24.9 (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.48–6.82 (23H, m), 7.99 (1H, dd, *J* = 2.2, 8.5 Hz), 6.91 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 5.65 (1H, t, *J* = 9.5 Hz), 6.20 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 6.16 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 6.03 (1H, s), 5.21–5.12 (5H, m), 5.99 (1H, d, *J* = 12.5 Hz), 4.95 (1H, d, *J* = 12.5 Hz), 4.87 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 4.82 (1H, d, *J* = 9.5 Hz), 4.69 (1H, d, *J* = 9.5 Hz), 4.64 (2H, s), 2.87 (1H, dd, *J* = 6.0, 16.0 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 8.0, 16.0 Hz), 1.83 (3H, s), 1.70 (3H, s), 1.54 (3H, s), 0.98 (18H, s), 0.91 (9H, s), 0.00 (18H, s); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 169.7, 168.7, 167.4, 158.7, 158.6, 156.3, 153.5, 152.9, 149.2, 148.7, 147.9, 147.2, 146.8, 137.3, 137.2, 136.9, 136.6, 130.7, 130.1, 128.5–127.3 (Cx17), 121.2, 121.1, 120.2, 106.7, 103.5, 95.2, 95.0, 80.4, 79.1, 73.1, 71.5, 71.1, 70.8, 69.9, 69.2, 35.8, 29.7, 26.0, 25.9, 25.6, 22.7, 20.9, 20.5, 19.8, 18.5, 18.1, 14.2, –4.0, –4.1 (x2); FABMS (*m/z*): 1408 (M<sup>+</sup> + H, 25), 1308 (28), 1305 (77), 1258 (30), 1257 (43), 1256 (44), 1216 (28), 1215 (52), 1214 (78), 1156 (27), 1155 (31), 1154 (37), 977 (21), 976 (23), 975 (33), 885 (23), 884 (21), 883 (31), 793 (29), 792 (31), 791 (48), 695 (40), 693 (29), 692 (52), 691 (100), 689 (35); HRFABMS: Calcd. for C<sub>82</sub>H<sub>99</sub>O<sub>15</sub>Si<sub>3</sub>, 1407.6392; Found, 1407.6284.

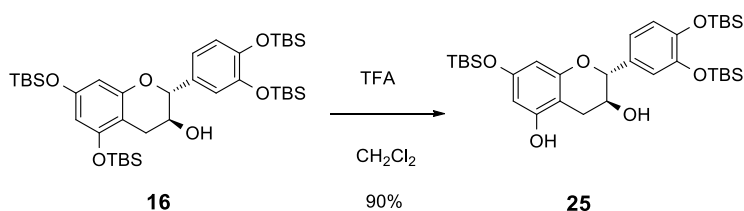


## 第8章 総括

本博士論文では、植物中に含まれるPAの中でも、天然での存在比率が低い構造である4-6型オリゴマー構造を持つ化合物procyanidin B6 (**4**)を純粋に得る方法論・技術の開発と、より機能性が高い非天然型PAの開発研究を進めた。順番的には、非天然型PAの開発研究について、TBDMS基を用いて行っていた過程で、偶然見出されたフラバン-3-オール誘導体の5位脱保護法開発が先であったが、これが新たな4-6結合型オリゴマー合成法の開発へと展開する本博士論文研究の鍵となった。

3章では、活性が高い非天然型PAの開発研究を目的とし、合成研究で用いる保護基の検討を行った。シリル系の保護基であるTBDMS基を用いて、上下ユニットをそれぞれアセチル化した2量体を合成したところ、子宮頸ガン細胞HeLa S3細胞に対する細胞増殖抑制活性が向上した非天然型のPA合成に成功した。このことは、天然型PAの機能性をさらに高める方法があることを示している。また、この活性向上も、微細な構造の違いによって影響を受けることも明らかにした。

4章では、TBDMS基で保護したフラバン-3-オール誘導体の5位選択的脱保護条件の開発と、その構造決定について述べた。この脱保護法の発見は、5章の7位脱保護法の開発、また、6章の4-6型オリゴマー合成法につながった。



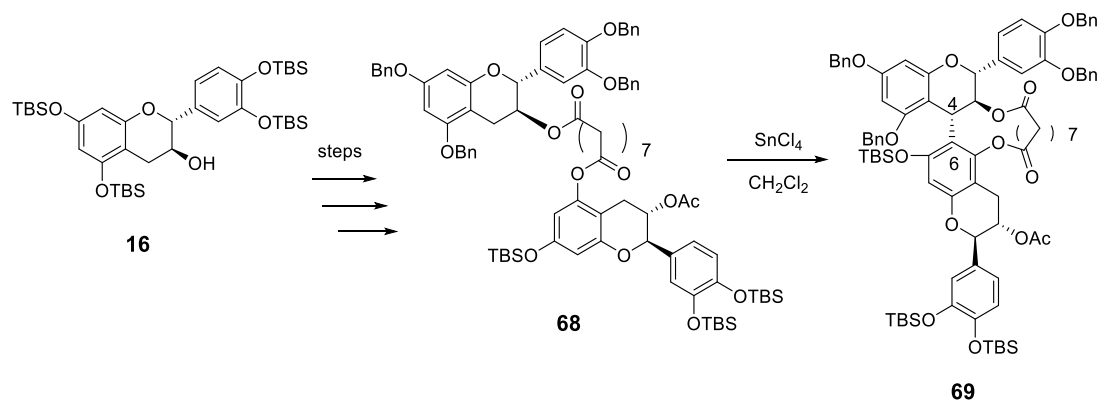
**Scheme 8-1.** 本研究の鍵となる5位選択的脱保護法

5章では、4章の成果を受け、5位だけではなく、7位の選択的修飾法の開発を検討した結果、および、その応用について述べた。生物活性を増強すると考えられているガロイル基を導入し、その構造-活性相関研究を進めたところ、5位への導入は活性を高くするが、7位への導入では影響は少ないことが確認された。このことは、やはり、当研究室の持論である微細な構造の違いが生物活性に大きく影響するという考えを証明するものであった。

6章では、4章で述べた5位選択的脱保護法を応用し、4-6型オリゴマー構造を持つ化合物procyanidin B6 (**4**)を選択的に合成できる方法論を開発することができた。具体的には、TBDMS基の5位選択的脱保護を利用した分子内環化反応を開発した。5位の水酸基と求電子体の3位をリンカーで結合させ分子内で縮合を行ったところ、炭素鎖が7のとき環状化合物を得ることができた。得られた環化生成物を解析したところ4-6結合した2量体であること、また3,4の立体はtrans体であることが確認された(Scheme 8-2)。

4-6型オリゴマーprocyanidin B6 (**4**)の合成研究は、東京工業大学鈴木先生らによる報告に

ついで2報目であるが、方法論的には異なることから、学術的に十分価値があると考えている。



**Scheme 8-2.** 4-6 型オリゴマー合成法

## 参考文献

1. 松林久行: 食料・農業・農村基本計画、大成出版社、5-35 (2015).
2. J. B. Harborne, “The Flavonoids, Advances in research from 1986”. Chapman and Hall: London, (1993).
3. J. B. Harborne, H. Baxter, (1999) “Handbook of Natural Flavonoids. The Handbook of Natural Flavonoids”. John Wiley & Sons, NY.
4. 厚生労働省 HP: <http://www.mhlw.go.jp/>
5. 消費者庁 HP: <http://www.caa.go.jp/>
6. 田崎達明編、栄養科学イラストレイテッド 食品衛生学、羊土社 (2017) p152 第7章 食品表示制度
7. L. J. Porter., “The Flavonoids” ed. by JB Harborne, TJ Mabry, Chapman and Hall Ltd., London, 21(1998).
8. A. Saito, Y. Mizushima, H. Ikawa, H. Yoshida, Y. Doi, A. Tanaka, N. Nakajima, “Systematic synthesis of galloyl-substituted procyanidin B1 and B2, and their ability of DPPH radical scavenging activity and inhibitory activity of DNA polymerases.”, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 2759-2771 (2005).
9. H. Tong, X. Song, X. Sun, G. Sun, F. Du, “Immunomodulatory and antitumor activities of grape seed proanthocyanidins.”, *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 11543-11547 (2011).
10. S. Tanaka, K. Furuya, K. Yamamoto, K. Yamada, M. Ichikawa, M. Suda, H. Makabe, “Procyanidin B2 gallates inhibit IFN- $\gamma$  and IL-17 production in T cells by suppressing T-bet and ROR $\gamma$ t expression.”, *Int. Immunopharmacol.*, **44**, 87-96 (2017).
11. C. Fauvelle, M. Lambotin, “A cinnamon-derived procyanidin type A compound inhibits hepatitis C virus cell entry.”, *Hepatology Int.*, **11**, 440-445 (2017).
12. 有賀敏明, 細山浩, 徳武昌一, 山越純: “プロアントシアニジンの機能性解明と開発”, *日本農芸化学会誌*, シーエムシー出版社, **74**, 1-8 (2000).
13. 吉田隆志、有井雅幸: 「植物ポリフェノール含有素材の開発」、シーエムシー出版社、6-10 (2007).
14. M. S. Silva, I. Garcia-Estevez, E. Brandao, N. Mateus, V. Freitas, S. Soares, “Molecular interaction between salivary proteins and food tannins.”, *J. Agric. Food Chem.*, **65**, 6415-6424 (2017).
15. S. Soares, I. Garcia-Estevez, R. Ferrer-Galego, N. F. Baris, E. Brandao, M. Silva, N. Teixeira, F. Foneseca, S. F. Sousa, F. Ferreira-da-Silva, N. Mateus, V. de Freitas, “Study of human salivary prolin-rich proteins interaction with food tannins.”, *Food Chem.*, **243**, 175-185 (2018)
16. R. C. P. Pinto, G. Sousa, F. Crispim, J. D. A. Silvestre, C. P. Neto, “Eucalyptus globulus bark as source of tannin extracts for application in leather industry” *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **1**, 950-955 (2013).

17. J. W. Nam, R. S. Phansalkar, D. C. Lankin, J. B. MacAlpine, A. A. Leme-Kraus, C. M. P. Vidal, L. S. Gan, A. Bedran-Russo, S. N. Chen, G. F. Pauli, "Absolute configuration of native oligomeric proanthocyanidins with dentin biomodification potency.", *J. Org. Chem.*, **82**, 1316-1329 (2017).
18. D. J. Epasinghe, M. F. Burrow, C. K. Y. Yiu, "Effect of proanthocyanidin on ultrastructure and mineralization of dentine collagen.", *Arch. Oral Biol.*, **84**, 29-36 (2017).
19. X. Li, G. Wang, D. Chena, Y. Lu, "Interaction of procyanidin B3 with bovin serum albumin.", *RSC Adv.*, **4**, 7301-7312 (2014).
20. J. F. Harbertson, R. L. Kilmister, M. A. Kelm, M. O. Downy, "Impact of condensed tannin size as individual and mixed polymers on bovin serum albumin precipitation.", *Food Chem.*, **160**, 16-21 (2014).
21. W. Zhu, L. Xiong, J. Peng, X. Deng, J. Gao, C. Li, "Molecular insight into affinities of gallated and nongallated proanthocyanidins dimers ot lipid bilayers.", *Sci. Rep.*, **6**, 37680 (2016).
22. S. Cyboran-Mikolajczyk, R. Zylka, "Interaction of procyanidin B3 with membrane lipids-fluorescence, DSC and FTIR studies.", *Biochim., Biophys. Acta.*, **1859**, 1362-1371 (2017).
23. Y. Yamada, S. Iwai, A. Tsuboi, C. Kurahashi, M. Ota, T. Matsuoka, T. Sanbe, K. Oguchi, "Theanine potentiates the inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on matrix metalloprotease activity in Langerhans-like cells and on tube formation.", *Showa Univ. J. Med. Sciences*, **21**, 117-129 (2009).
24. S. Gorlahc, W. Wagner, A. Podsedek, D. Sosnowska, J. Dastych, M. Koziółkiewicz, "Polyphenols from evening primrose (*Oenothera paradoxa*) defatted seeds induce apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells.", *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 6985–6997 (2011).
25. Y. Miura, T. Chiba, I. Tomita, H. Koizumi, S. Miura, K. Umegaki, Y. Hara, M. Ikeda, T. Tomita, "Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice", *J. Nutr.*, **131**, 27-32, (2001).
26. T. Suzuki, T. Takahashi, C. T. Guo, K. I. Hidari, D. Miyamoto, H. Goto, Y. Kawaoka, Y. Suzuki, "Sialidase activity of influenza A virus in an endocytic pathway enhances viral replication.", *J. Virol.*, **79**, 11705-11715 (2005).
27. F. Mendel, "Antibacterial, antiviral, and antifungal properties of wines and winery yproducts in relation to their flavonoid content.", *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 6025–6042 (2014).
28. M. Toda, S. Okubo, H. Ikigai, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Hara, T. Shimamura, "The protective activity of tea catechins against experimental infection by *Vibrio cholerae* O1.", *Microbiol. Immunol.*, **36**, 999- 1001 (1992).
29. A. Saito, N. Nakajima, A. Tanaka, M. Ubukata, "Synthetic studies of proanthocyanidins. Highly

- stereoselective synthesis of catechin dimer, procyanidin-B3.”, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **66**, 1764-1767 (2002).
30. A. Saito, N. Nakajima, A. Tanaka, M. Ubukata, “Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 2. Stereoselective gram-scale synthesis of procyanidin-B3.”, *Tetrahedron*, **58**, 7829-7837 (2002).
  31. A. Saito, N. Nakajima, A. Tanaka, M. Ubukata, “Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 3. Stereoselective 3,4-*cis* catechin and catechin condensation by TMSOTf-catalyzed intramolecular coupling method.”, *Tetrahedron Letters*, **44**, 5449-5452 (2003).
  32. A. Saito, N. Nakajima, A. Tanaka, M. Ubukata, “Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 4. The synthesis of procyanidin B1 and B4. TMSOTf-catalyzed cyclization of catechin and epicatechin condensation”, *Heterocycles*, **61**, 287-298 (2003).
  33. A. Saito, N. Nakajima, N. Matsuura, A. Tanaka, M. Ubukata, “Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 5. Highly stereoselective synthesis and inhibitory activity of Maillard reaction of 3,4-*trans* catechin and epicatechin dimers, Procyanidin B1, B2, B3, B4 and their acetates”, *Heterocycles*, **62**, 479-489 (2004).
  34. A. Saito, A. Tanaka, M. Ubukata, N. Nakajima, “Efficient stereoselective synthesis of proanthocyanidin trimers with TMSOTf-catalyzed intermolecular condensation.”, *Synlett*, 1069-1073 (2004).
  35. A. Saito, Y. Doi, A. Tanaka, N. Matsuura, M. Ubukata, N. Nakajima, “Systematic synthesis of four epicatechin series procyanidin trimers and their inhibitory activity on the Maillard reaction and antioxidant activity.”, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 4783-4790 (2004).
  36. A. Saito, A. Tanaka, M. Ubukata, N. Nakajima, “Stereoselection of 3,4-*cis* and 3,4-*trans* catechin and catechin condensation under intramolecular coupling method.”, *Synlett*, 2040-2042 (2004).
  37. A. Saito, M. Emoto, A. Tanaka, Y. Doi, K. Shoji, Y. Mizushina, H. Ikawa, H. Yoshida, N. Matsuura, N. Nakajima, “Stereoselective synthesis of procyanidin B3-3-*O*-gallate and 3,3"-di-*O*-gallate, and their abilities as antioxidant and DNA polymerase inhibitor.”, *Tetrahedron*, **60**, 12043-12049 (2004).
  38. A. Saito, Y. Mizushina, H. Ikawa, H. Yoshida, Y. Doi, A. Tanaka, N. Nakajima, “Systematic synthesis of galloyl-substituted procyanidin B1 and B2, and their ability of DPPH radical scavenging activity and inhibitory activity of DNA polymerases.”, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 2759-2771 (2005).
  39. Y. Mizushina, A. Saito, A. Tanaka, N. Nakajima, I. Kuriyama, M. Takemura, T. Takeuchi, F. Sugawara, H. Yoshida, “Structural analysis of catechin derivatives as mammalian DNA polymerase inhibitors.”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 101-109 (2005).
  40. H. Sakuda, A. Saito, Y. Mizushina, H. Yoshida, A. Tanaka, N. Nakajima, “Synthesis of galloyl-substituted procyanidin B4 series, and their deep radical scavenging activity and

- DNA polymerase inhibitory activity.”, *Heterocycles*, **67**, 175-188 (2006).
41. A. Saito, Y. Mizushima, A. Tanaka, N. Nakajima, “Versatile synthesis of epicatechin series procyanidin oligomers, and their antioxidant and DNA polymerase inhibitory activity.”, *Tetrahedron*, **65**, 7422-7428 (2009).
  42. A. Saito, N. Nakajima, “Structure activity relationships of synthesized procyanidin oligomers: their DPPH radical scavenging activity and the Maillard reaction inhibitory activity.”, *Heterocycles*, **80**, 1081-1090 (2010).
  43. S. Ishihara, S. Doi, K. Harui, T. Okamoto, S. Okamoto, J. Uenishi, T. Kawasaki, N. Nakajima, A. Saito, “Development of a new synthetic strategy for procyanidin dimer condensation using peracetylated electrophiles.”, *Heterocycles*, **88**, 1595-1602 (2014).
  44. Y. Hamada, S. Takano, Y. Ayano, M. Tokunaga, T. Koashi, S. Okamoto, S. Doi, M. Ishida, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Nakajima, A. Saito, “Structure–activity relationship of oligomeric flavan-3-ols: Importance of upper-unit B-ring hydroxyl groups in the dimeric structure for strong activities.”, *Molecules*, **20**, 18870-18885 (2015).
  45. S. Tsukuda, K. Watashi, T. Hojima, M. Isogawa, M. Iwamoto, K. Omagari, R. Suzuki, H. Aizaki, S. Kojima, M. Sugiyama, A. Saito, Y. Tanaka, M. Mizokami, C. Sureau, T. Wakita, “A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins”, *Hepatology*, **65**, 1104-1116 (2017).
  46. S. Wang, R. Jin, R. Wang, Y. Hu, X. Dong, A. Xu, “The design, synthesis and biological evaluation of pro-EGCG derivatives and novel anti-vitiligo agents.”, *RSC Adv.*, **6**, 106308 (2016).
  47. M. Nizuno, I. Nakanishi, S. Matsubayashi, K. Imai, T. Arai, K. Matsumoto, K. Fukuhara, “Synthesis and antioxidant activity of a procyanidin B3 analogue.”, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 1041-1044 (2017).
  48. S. Okamoto, S. Ishihara, T. Okamoto, S. Doi, K. Harui, Y. Higashino, T. Kawasaki, N. Nakajima, A. Saito, “Inhibitory activity of synthesized acetylated procyanidin B1 analogues against HeLa S3 cells proliferation.”, *Molecules*, **19**, 1775-1785 (2014).
  49. Y. Higashino, T. Okamoto, S. Komeda, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Noriyuki, A. Saito, “Synthesis of procyanidin B3 acetate analog and its biological activity.” In preparation.
  50. Y. Higashino, T. Okamoto, K. Mori, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Nakajima, A. Saito, “Regioselective synthesis of procyanidin B6, 4-6 condensed (+)-catechin dimer, by intramolecular condensation strategy.”, *Molecules*, **23**, 205, (2018)
  51. G. Watanabe, K. Ohmori, K. Suzuki, “A seco-catechin cyclization approach to 4→6-linked catechin dimers.”, *Chem. Commun.* **49**, 5210–5216 (2013).
  52. 森一起、修士学位論文(2015)。
  53. H. Kawamoto, F. Nakatsubo, K. Murakami, “Chemical Structure of Synthetic Condensed

- Tannin from Benzylated Flavan-3,4-diol”, *Mokuzai Gakkaishi*, **37**, 488–493 (1991).
54. A. P. Kozikowski, W. Tuckmantel, Y. J. Hu, “Studies in Polyphenol Chemistry and Bioactivity. 3.<sup>1,2</sup> Stereocontrolled Synthesis of Epicatechin-4 $\alpha$ ,8-epicatechin, an Unnatural Isomer of the B-Type Procyanidins”, *Org. Chem.* **66**, 1287–1296 (2001).
  55. Y. Oizumi, Y. Mohri, M. Hirota, H. Makabe, “Synthesis of procyanidin B3 and its anti-inflammatory activity. The effect of 4-alkoxy group of catechin electrophile in the Yb(OTf)<sub>3</sub>-catalyzed condensation with catechin nucleophile.”, *J. Org. Chem.*, **75**, 4884–4886 (2010).
  56. S. Okamoto, S. Ishihara, T. Okamoto, S. Doi, K. Harui, Y. Higashino, T. Kawasaki, N. Nakajima, A. Saito, “Inhibitory activity of synthesized acetylated procyanidin B1 analogs against HeLa S3 cells proliferation.”, *Molecules*, **19**, 1775–1785 (2014).
  57. M. Tsuruya, Y. Niwano, K. Nakamura, T. Kanno, T. Nakashima, H. Egusa, K. Sasaki, “Acceleration of proliferative response of mouse fibroblasts by short-time pretreatment with polyphenols.”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **174**, 2223–2235 (2014).
  58. 岡本泰輔、修士学位論文(2013)。
  59. K. Mori, Y. Ayano, Y. Hamada, T. Hojima, R. Tanaka, Y. Higashino, M. Izuno, T. Okamoto, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Nakajima, A. Saito, “Role of 2,3-*cis* structure of (–)-epicatechin-3,5-*O*-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation.”, *Nat. Prod. Chem. Res.*, **3**, 172 (2015).
  60. S. M. Hussein, “Flavanol Molluscicides from the Sudan Acacias”, *J. Crude Drug Res.*, **23**, 87–90(1985)
  61. M. Maldini, P. Montoro, A. I. Hamed, U. A. Mahalel, W. Oleszek, A. Stochmal, S. Piacente, “Strong antioxidant phenolics from *Acacia nilotica*: Profiling by ESI-MS and qualitative–quantitative determination by LC–ESI-MS”, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **56**, 228–239, (2011)
  62. V. Ramanandraibe, V. Ramanandraibe, P. Grellier, M. T. Martin, A. Deville, R. Joyeau, D. Ramanitrahasimbola, E. Mouray, P. Rasoanaivo, L. Mambu, “Antiplasmodial Phenolic compounds from *Piptadenia pervillei*”, *Pranta Medica*, **74**, 417–421, (2008)
  63. T. Hojima, S. Komeda, Y. Higashino, M. Hamada, N. Nakajima, T. Kawasaki, A. Saito, “Role of 3,5-digalloyl and 3',4'-dihydroxyl structure of (–)-epicatechin-3,5-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation.”, *Nat. Prod. Chem. Res.*, **5**, 250 (2017)
  64. 法島太一、修士学位論文(2017)

## 謝辞

本研究を進めるにあたって終始指導いただきました大阪電気通信大学大学院工学研究科先端理工学専攻 齊藤安貴子教授に感謝いたします。また、お忙しい中副査をお引き受けいただいた大阪電気通信大学大学院工学研究科先端理工学専攻 川口雅之 教授、森田成昭教授、富山県立大学工学部医薬品工学科 中島範行 教授に心から感謝いたします。

そして学術論文、本博士論文作成に当たり MS スペクトル測定をしていただいた富山県立大学工学部医薬品工学科 濱田昌弘 先生に深く感謝いたします。

本博士論文作成に当たり協力いただいた岡本泰輔さん、岡本修平さん、森一起さん、法島太一さんには心から感謝しております。また7年間籍を置きともに研究を行ってきた齊藤研究室の卒業生の皆様、在学生の皆様を始めとするたくさんの方々のご助力をいただきました。厚くお礼を申し上げます。



## 業績

<学術論文> (3の論文は博士審査には使用しない)

1. Y. Higashino, T. Okamoto, K. Mori, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Nakajima, A. Saito, "Regioselective synthesis of procyanidin B6, 4-6 condensed (+)-catechin dimer, by intramolecular condensation." *Molecules*, **23**, 205, (2018)
2. S. Okamoto, S. Ishihara, T. Okamoto, S. Doi, K. Harui, Y. Higashino, T. Kawasaki, N. Nakajima, A. Saito, "Inhibitory activity of synthesized acetylated procyanidin B1 analogs against HeLa S3 cells proliferation", *Molecules*, **19**, 1775-1785 (2014).
3. K. Mori, Y. Ayano, Y. Hamada, T. Hojima, R. Tanaka, Y. Higashino, M. Izuno, T. Okamoto, T. Kawasaki, M. Hamada, N. Nakajima, A. Saito, "Role of 2,3-*cis* structure of (-)-epicatechin-3,5-*O*-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation.", *Nat. Prod. Chem. Res.*, **3**, 172 (2015).
4. T. Hojima, S. Komeda, Y. Higashino, M. Hamada, N. Nakajima, T. Kawasaki, A. Saito, "Role of 3,5-digalloyl and 3',4'-dihydroxyl structure of (-)-epicatechin-3,5-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation", *Nat. Prod. Chem. Res.*, **5**, 250 (2017).

<紀要>

5. 東野雄祐、法島太一、森一起、岡本泰輔、中島範行、齊藤安貴子、「Flavan-3-ol 類の位置選択的修飾法の開発」、大阪電気通信大学研究論集(自然科学編)第 50 号、2015、131-139.

<国際学会のプロシーディング>

6. Y. Higashino, Y. Hamada, T. Okamoto, S. Doi, S. Ishihara, K. Mori, S. Takano, T. Hojima, T. Shibazaki, T. Kawasaki, N. Nakajima, A. Saito, "Stereo- and regio- controlled synthetic studies of proanthocyanidins and their inhibitory activities against cancer cell proliferation.", *Polyphenols Communications*, 161-162 (2014).

<国際学会発表>

7. ○S. Ishihara, T. Okamoto, S. Doi, S. Okamoto, Y. Higashino, N. Nakajima, A. Saito, "Stereoselective synthesis of proanthocyanidins, and their SAR study.", IKCOC-12 (2012 年 11 月、京都、ポスター発表)
8. ○Y. Higashino, Y. Hamada, T. Okamoto, S. Doi, S. Ishihara, K. Mori, S. Takano, T. Hojima, T. Shibazaki, T. Kawasaki, N. Noriyuki, A. Saito, "Stereo- and regio- controlled synthetic studies of proanthocyanidins and their inhibitory activities against cancer cell proliferation.", ICP2014, (2014 年 9 月、名古屋、ポスター発表)
9. ○Y. Higashino, K. Mori, Y. Ayano, T. Hojima, N. Nakajima, A. Saito, "Synthetic study of various flavan-3-ol analogues by regioselective modification of 5-position of flavan-3-ols and their structure-activity-related study.", PACIFICHEM 2015, (2015 年 12 月、ハワイ、ポスター発表)

<学会発表（口頭発表）>

10. ○岡本泰輔、東野雄祐、植西譲二、石原沙也加、岡本修平、土井翔馬、中島範行、齊藤安貴子、「TBDMS を保護基として用いたプロシアニジ-B3 アナログの立体選択的合成と位置選択的脱保護」、日本農芸化学会全国大会(2012 年 3 月、京都、口頭発表)
11. ○岡本泰輔、東野雄祐、土井翔馬、岡本修平、石原沙也加、齊藤安貴子、「D 環 5 位を選択的に修飾した procyanidin-B1~B4 の立体選択的合成とその抗酸化活性」、日本農芸化学会関西支部(2012 年 7 月、大阪、口頭発表)
12. ○岡本泰輔、東野雄祐、濱田義知、石原沙也加、岡本修平、土井翔馬、中島範行、齊藤安貴子、「プロシアニジン・オリゴマーのプローブ化研究」、日本農芸化学会全国大会(2013 年 3 月、仙台、口頭発表)
13. ○森口正太郎、石原沙也加、岡本泰輔、東野雄祐、齊藤安貴子、「フルオラス・タグ化したプロシアニジンの合成と化学生物学研究」、日本農芸化学会全国大会(2013 年 3 月、仙台、口頭発表)
14. ○東野雄祐、森一起、岡本泰輔、中島範行、齊藤安貴子、「分子内反応を用いた 4-6 縮合型(+)-catechin 2 量体 procyanidin B6 の立体選択的合成」、日本農芸化学会全国大会、(2014 年 3 月、東京、口頭発表)
15. ○綾野義博、森一起、東野雄祐、石原沙也加、岡本修平、中島範行、齊藤安貴子、「脂肪鎖を導入した flavan-3-ol の HeLa S3 細胞増殖抑制活性」、日本農芸化学会全国大会（2014 年 3 月、東京、口頭発表）
16. 村上誠、○道下僚、小川明日華、西野裕樹、辻一成、花岡裕也、法島太一、西村拓也、東野雄祐、濱田義知、齊藤安貴子、「3,5-ジガロイル化フラバン-3-オール誘導体をリード化合物とした構造-活性相関研究」日本農芸化学会全国大会（2018 年 3 月、名古屋、口頭発表予定）

<学会発表（ポスター発表）>

17. ○岡本泰輔、岡本修平、土井翔馬、石原沙也加、東野雄祐、（他 2 名）、齊藤安貴子「プロアントシアニジンの化学：効率的合成法の開発ならびに化学生物学研究」、天然有機化合物討論会(2012 年 9 月、東京、ポスター発表)
18. ○森一起、東野雄祐、岡本泰輔、法島太一、小芦貴弘、中島範行、齊藤安貴子、「TBS で保護した flavan-3-ol の 5 位選択的脱保護法の開発と 5 位を利用した様々な化合物の新規合成法」、新規素材探索研究会（2014 年 6 月 6 日、横浜、ポスター発表）
19. ○小芦貴弘、綾野義博、野呂健太、森一起、東野雄祐、（他 3 名）、齊藤安貴子、「3 位、あるいは、5 位に位置選択的に脂肪酸を導入した flavan-3-ol の合成と脂肪鎖の導入位置による生物活性の変化」、新規素材探索研究会(2014 年 6 月 6 日、横浜、ポスター発表)
20. ○濱田義知、綾野義博、石原沙也加、岡本修平、土井翔馬、春井宏太、泉野麻友、小芦貴弘、森一起、高野翔太、東野雄祐、吉仲由之、中島範行、齊藤安貴子、「有機合成化学を軸とした Proanthocyanidin の構造-活性相関研究」、ケミカルバイオロジー学会（2014 年 6 月 13 日、大阪、ポスター発表）
21. ○東野雄祐、綾野義博、濱田義知、森一起、小芦貴弘、泉野麻友、春井宏太、堀川敦、法島太一、柴崎亨、野呂健太、富田貴之、吉仲由之、中島範行、齊藤安貴子、

- 「プロアントシアニジンの合成研究を軸とした構造-活性相関研究と化学生物学研究」天然有機化合物討論会 (2014 年 10 月、高知、ポスター発表)
22. ○米田慎吾、八上修一、平井瑞輝、東野雄祐、濱田義知、西村拓哉、中島範行、齊藤安貴子、「部分的にアセチル化したプロシアニジン誘導体の構造-活性相関研究」、新規素材探索研究会 (2016. 6. 3. 神奈川、ポスター発表)